

Francisco Rodrigues da Fonseca Pchara

**Estudo da transferência de CO₂ por borbulhamento para o cultivo de
microalgas em laboratório**

Dissertação submetida ao Programa
de Pós-Graduação em Aquicultura da
Universidade Federal de Santa Catarina
para a obtenção do grau de Mestre em
Aquicultura.

Orientador:

Prof. Luis Alejandro Vinatea Dr.

Co-orientador:

Prof. Roberto Bianchini Derner Dr.

Florianópolis

2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Rodrigues da Fonseca, Francisco

Estudo da transferência de CO₂ por borbulhamento para o cultivo de microalgas em laboratório / Francisco Rodrigues da Fonseca ; orientador, Luis Alejandro Vinatea ; coorientador, Roberto Bianchini Derner. - Florianópolis, SC, 2016.

62 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós Graduação em Aquicultura.

Inclui referências

1. Aquicultura. 2. biofixação de CO₂. 3. coeficiente global de transferência de massa gás-líquido. 4. Scenedesmus obliquus. 5. dióxido de carbono. I. Alejandro Vinatea, Luis. II. Bianchini Derner, Roberto. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação em Aquicultura. IV. Título.

**Estudo da transferência de CO₂ por borbulhamento para o cultivo
de microalgas em laboratório**

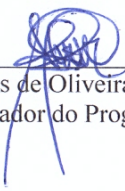
Por

FRANCISCO RODRIGUES DA FONSECA PCHARA

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

MESTRE EM AQUICULTURA

e aprovada em sua forma final pelo Programa de
Pós-Graduação em Aquicultura.

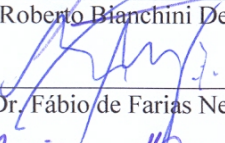


Prof. Alex Pires de Oliveira Nuñez, Dr.
Coordenador do Programa

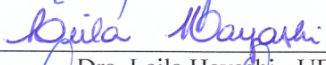
Banca Examinadora:



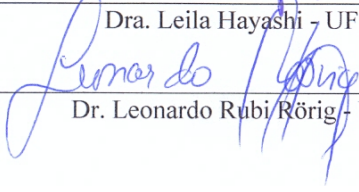
Dr. Roberto Blanchini Derner – *Presidente*



Dr. Fábio de Farias Neves - UDESC



Dra. Leila Hayashi - UFSC



Dr. Leonardo Rubi Rörig - UFSC

À meus pais por seu amor, apoio, dedicação e exemplo de compaixão e perseverança.

Agradecimentos

À minha família pelo apoio incondicional, acreditando no meu sucesso e sempre me fornecendo o essencial, o amor.

Ao meu orientador Luis Alejandro Vinatea e ao co-orientador Roberto Bianchini Derner por proporcionarem a possibilidade de prosseguir com o tema e abrir portas para o desenvolvimento deste trabalho.

À minha namorada pela parceria e compressão durante os momentos difíceis e pelos momentos únicos que me fazem mais feliz.

À Rafaela Gordo Corrêa pela amizade, pelos conselhos e pela parceria durante estes últimos anos.

Ao Rafael Pacheco Derner, pela amizade durante o trabalho e a pela parceria nos momentos bons e ruins.

Ao professor Fábio Neves, por ter propiciado minha entrada no projeto de pesquisa que foi o ponto de partida para o desenvolvimento do meu mestrado e pelos conselhos durante esta etapa.

Ao grupo de alunos e pesquisadores do LCA por fazerem do trabalho algo sério e ao mesmo tempo divertido, e por me auxiliarem nas atividades do laboratório e do experimento.

À Isabela Pinheiro, por ter dedicado seu tempo para me ajudar durante diversos momentos durante o meu mestrado ficando comigo alguns dias até as 3 horas da manhã no laboratório.

Aos demais amigos que acumulei durante esta etapa e aos que já fazem parte da minha vida, com eles tudo fica mais fácil.

À todos servidores, técnicos, funcionários e professores que trabalham no LCM e no CCA me acolheram durante todos esses anos, desde a graduação, com ensinamentos, compreensão e boas risadas nos momentos de descontração.

Ao amigo Marcos Santiago, por abrir espaço no Laboratório de Tratamento Biológico de Resíduos, proporcionando conhecimentos fundamentais para o desenvolvimento deste estudo.

A Capes pela bolsa de estudos e ao CNPq pelo apoio financeiro para execução do projeto.

*“A teoria sem a prática vira ‘verbalismo’, assim
como a prática sem teoria, vira ativismo. No
entanto, quando se une a prática com a teoria
tem-se a práxis, a ação criadora e modificadora da
realidade.”*

Paulo Freire



Resumo

Com objetivo de estudar a transferência de CO_2 em um fotobiorreator utilizado para fins laboratoriais foram aplicadas três condições operacionais no sistema de fornecimento de CO_2 por borbulhamento: tamanho de bolhas, taxa de aeração e concentração de CO_2 . Foram empregados dois tipos de difusores de ar (pipeta de vidro e difusor de vidro sinterizado), os quais promoveram diferentes tamanhos de bolhas, e foram comparados sobre três taxas de aeração (0,125, 0,25 e 0,5 vvm) quanto ao coeficiente global de transferência de massa gás-líquido ($k_La \text{ CO}_2$) e a eficiência de captura de CO_2 . A microalga *Scenedesmus obliquus* foi cultivada sobre o emprego de ar atmosférico (0,04% de CO_2) e ar atmosférico enriquecido com CO_2 nas concentrações de 0,5%, 1% e 2%, aplicadas a uma taxa de aeração de 0,25 vvm. Os resultados demonstraram que o $k_La \text{ CO}_2$ foi aumentando tanto com a elevação da taxa de aeração, quanto com a aplicação de bolhas menores (difusor de vidro sinterizado), no entanto, a eficiência de captura do CO_2 foi menor quando foram aplicadas as maiores taxas de aeração. A condição onde foi aplicado o difusor de vidro a uma taxa de aeração de 0,25 vvm proporcionou um $k_La \text{ CO}_2$ de $11,98 \pm 0,6 \text{ h}^{-1}$, considerado crítico (ótimo) para o fotobiorreator deste estudo. O aumento nas concentrações de CO_2 promoveu melhores resultados quanto ao crescimento em biomassa e, consequentemente, na fixação de CO_2 nas culturas de *S. obliquus*, no entanto, o aumento também promoveu menores eficiências de fixação de CO_2 . A aplicação de 1% ou 2% de CO_2 não causou diferenças estatísticas significativas em relação ao ganho em biomassa, nem na produtividade das culturas, portanto, visando a otimização do uso do CO_2 - evitando perdas deste gás para atmosfera - a adição de 1% de CO_2 ao gás de entrada foi considerada a concentração crítica (ótima) a ser aplicada no sistema estudado.

Palavras-chave: Aquicultura, Biofixação de CO_2 , Coeficiente global de transferência de massa gás-líquido, *Scenedesmus obliquus*, dióxido de carbono.

Abstract

In order to provide carbon properly for growth of microalgae *Scenedesmus obliquus* grown in photobioreactor used for laboratory purposes, three operating conditions (bubble size, aeration rate and concentration of CO₂) were studied in the bubbling CO₂ supply system. Two types of spargers (glass pipette, and sintered glass diffuser) promoting different bubble sizes were compared on three aeration rates (0.125, 0.25 and 0.5 vvm) regarding to the overall coefficient of mass transfer gas-liquid (k_La CO₂) and CO₂ capture efficiency. *S. obliquus* was grown at atmospheric air (0.04% CO₂) and air enriched with CO₂ at concentrations of 0.5 % 1 % and 2 %, applied to an aeration rate of 0.25 vvm. The results showed that k_La CO₂ can be increased by either increasing the rate of aeration or by applying lower size bubbles (diffuser), however when higher aeration rates are applied the CO₂ capture efficiency decreases. The condition where the glass diffuser was applied to a aeration rate of 0.25 vvm provided a k_La CO₂ of $11.98 \pm 0,6 \text{ h}^{-1}$, considered critical to the system. The increase in concentrations of CO₂ promoted better results for growth and consequently CO₂ fixation to *S. obliquus*, however, led to lower CO₂ fixation efficiencies. Statistically, apply 1% or 2% had no significant difference in gain on biomass or productivity for the culture, so as to avoid loss of gas to atmosphere, apply 1% of CO₂ to input gas was considered the critical concentration to be applied in the system studied.

Keywords: Aquaculture, CO₂ fixation rate, k_La CO₂, *Scenedesmus obliquus*, carbon dioxide.

Lista de Figuras

1.1	Diagrama demonstrando as películas estagnadas que oferecem resistência à transferência de massa gás-líquido em um fotobiorreator.....	27
2.1	Fotobiorreator de uso laboratorial com volume útil de 4,5 L	36
2.2	Esquema representando o sistema de fornecimento de CO ₂	37
3.1	K _L a CO ₂ em função da taxa de aeração e eficiência de captura de CO ₂ em função da taxa de aeração	42
3.2	Curva de crescimento de <i>S. obliquus</i> em biomassa sobre diferentes concentrações de CO ₂	45
3.3	Irradiância dentro do fotobiorreator em função da concentração celular em biomassa de <i>S. obliquus</i>	46
3.4	Acúmulo de carbono inorgânico dissolvido no cultivo de <i>S. obliquus</i> em função do tempo sob concentrações de CO ₂	47
3.5	Resposta do pH ao longo do tempo no cultivo da <i>S. obliquus</i> sob concentrações de CO ₂	48
3.6	Relação entre pH e concentração de carbono inorgânico dissolvido (DIC) em função do aumento na concentração de CO ₂ no dia 3 de cultivo	49
3.7	Relação entre a taxa máxima de fixação de CO ₂ e a eficiência de fixação de CO ₂ em função da concentração de CO ₂ no cultivo de <i>S. obliquus</i>	53

Lista de Tabelas

1.1	Modos de cultivo de microalga de acordo com a fonte de carbono e energia	23
2.1	Composição do meio de cultura BBM modificado - 4N.BBMP/3	38
3.1	Biomassa máxima alcançada (B_{\max}), Produtividade total em biomassa (P_{total}), Produtividade máxima (P_{\max}) determinada a partir de regressão linear da curva de crescimento e a taxa de fixação máxima ($RF_{\text{CO}_2 \cdot \max}$) para <i>S. obliquus</i> sob diferentes concentrações de CO_2	50

Sumário

Introdução	21
1.1 Microalgas e suas aplicações	21
1.2 Cultivo de microalgas.....	22
1.2.1 Carbono no cultivo de microalgas	24
1.2.2 Solubilidade do CO ₂ na água	25
1.3 Transferência de massa em reatores de algas	26
1.3.1 Injeção direta de CO ₂ por borbulhamento	28
Objetivos	30
1.1 Objetivo geral	30
1.2 Objetivos específicos	30
Artigo Científico	31
Resumo	32
1 Introdução	33
2 Material e Métodos	34
2.1 Avaliação da transferência de CO ₂ no reator	34
2.1.1 Eficiência de captura de CO ₂	35
2.2 Efeito do CO ₂ no cultivo de <i>S. obliquus</i>	37
2.2.1 Microalga e meio de cultura	37
2.2.2 Condições de Cultivo e Aclimação	38
2.2.3 Parâmetros físicos e químicos.....	39
2.2.4 Determinação dos parâmetros de crescimento celular .	40
2.2.5 Avaliação da fixação de Carbono	40
3 Resultados e Discussão	41
3.1 Estudo da transferência de CO ₂	41
3.2 Efeito das concentrações de CO ₂ no cultivo de <i>S. obliquus</i> ..	44
Referências Bibliográficas	54

Introdução

1.1 Microalgas e suas aplicações

As microalgas, devido a sua capacidade de adaptação, desenvolvem-se nos habitats mais variados, crescendo prioritariamente em suspensão de soluções líquidas (BARSANTI; GUALTIERI, 2014). Podem ser encontradas em água doce e água do mar, oceanos profundos, costões rochosos, ambientes ácidos, alcalinos e inclusive fora de ambientes aquáticos, como no gelo e em areia de desertos (TEBBANI *et al.*, 2014). Na maioria dos habitats apresentam função principal de produtores primários de cadeia alimentar, por conta do processo fotossintético (LEE, 1999).

O termo microalgas não tem valor taxonômico, engloba micro-organismos algais com clorofila *a* e outros pigmentos fotossintéticos, os quais são capazes de realizar a fotossíntese oxigênica e, suas caracterização (sistemática) implica na consideração de uma série de critérios (RAVEN, 2014).

O cultivo de microalgas é desenvolvido em escala laboratorial há pelo menos 140 anos, e o seu uso comercial há mais de seis décadas (LOURENÇO, 2006). Prioritariamente, as microalgas são utilizadas como fonte de alimentação direta ou indireta no cultivo de algumas espécies de peixes, moluscos e crustáceos (LAVENS; SORGELOOS, 1996). Outro importante mercado é o uso das microalgas na elaboração de suplementos alimentares a partir de microalgas, principalmente devido a síntese e acumulação na biomassa de compostos nutracêuticos como, ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs) e pigmentos carotenoides como a astaxantina, o betacaroteno, a luteína e a cantaxantina, que apresentam propriedades terapêuticas (GILL; VALIVETY, 1997). Atualmente, são comercializadas como alimento natural ou suplemento alimentar e são encontradas formulações em pó, tabletes, cápsulas ou extratos. São também incorporadas em massas, petiscos, doces, bebidas etc., tanto como suplemento nutricional quanto como corantes naturais (DERNER *et al.*, 2006). Os estudos quanto a aplicação das microalgas não está apenas concentrado na melhoria da produção deste produtos, mas também na produção de novos produtos tais como o biodiesel, o etanol, e produtos químicos renováveis, tais como amido, sacarose e etileno.

Considerando o atual contexto global (esgotamento dos recursos fósseis, produção de gases de efeito estufa etc.) as microalgas têm sido

consideradas como potenciais fontes de energia renovável (TEBBANI *et al.*, 2014) e possíveis agentes mitigadores de impactos ambientais. Embora os biocombustíveis produzidos utilizando culturas oleaginosas e óleos usados não possam por si só suportar a demanda existente dos combustíveis, as microalgas parecem ser uma das mais promissoras opções para obtenção de matéria-prima para essa finalidade (CHISTI, 2007). Além da produtividade de uma cultura de microalgas superar a de qualquer vegetal comercialmente produzido, as diversas espécies apresentam elevados teores de lipídeos, podendo fornecer matéria-prima para vários tipos diferentes de combustíveis renováveis, como o biodiesel, metano, hidrogênio, etanol, entre outros (LOURENÇO, 2006; MATA *et al.*, 2010).

A remoção do CO₂ de gases de combustão industriais pela biofixação a partir de microalgas é outra possível aplicação para o cultivo combinado ao tratamento de efluentes industriais. Os gases provenientes da combustão nas usinas de energia são responsáveis por mais de 7% da emissão total de CO₂ no mundo. Estes gases de escape industriais contêm até 15% de CO₂, fornecendo uma fonte rica de carbono inorgânico para o cultivo de microalgas e uma rota potencialmente mais eficiente para biofixação de CO₂ da atmosfera (MATA *et al.*, 2010; KADAM, 1997). Os custos de produção de microalgas podem ainda ser reduzidos se o cultivo for combinado com processos tais como o tratamento de águas residuais e a produção de compostos com alto valor agregado (TEBBANI *et al.*, 2014).

1.2 Cultivo de microalgas

Visando alcançar maior produtividade nos cultivos de microalgas, e que estes sejam rentáveis, é de vital importância a seleção do modo de cultivo. Quatro principais modos de produção podem ser utilizados, chamados como fotoautotrófico, heterotrófico, foto-heterotrófico e mixotrófico (Tabela 1.1) (PEREZ-GARCIA; BASHAN, 2015). O cultivo fotoautotrófico é o mais comumente utilizado, onde as microalgas utilizam luz como fonte energética e uma fonte de carbono inorgânico, tais como CO₂ ou bicarbonato (CHEN *et al.*, 2011). Entretanto, existem algumas espécies que também podem ser heterotróficas, utilizam carbono orgânico como fonte de carbono e energia, desta forma não precisam de luz para o desenvolvimento. O crescimento heterotrófico é um processo aeróbio, onde a assimilação do substrato orgânico gera energia

através da fosforilação oxidativa acompanhado pelo consumo de oxigênio como receptor de elétrons final. Já o cultivo mixotrófico é a modo de crescimento onde as microalgas utilizam simultaneamente carbono inorgânico e orgânico como fonte de carbono na presença de luz, portanto, duas vias metabólicas são ativadas simultaneamente tanto a fotoautotrófica quanto a heterotrófica (PEREZ-GARCIA; BASHAN, 2015; WANG *et al.*, 2014).

Tabela 1.1 Modos de cultivo de microalga de acordo com a fonte de carbono e energia

Tipo de metabolismo	Fonte de carbono	Fonte de energia
Fotoautotrófico	CO ₂	Luz
Mixotrófico	CO ₂ / Carbono orgânico	Luz / Carbono orgânico
Heterotrófico	Carbono orgânico	Carbono orgânico
Foto-heterotrófico	Carbono orgânico	Luz

Fonte: Perez-Garcia e Bashan (2015).

Quanto aos sistemas de cultivo fotoautotróficos, de modo geral, existem duas categorias principais: sistemas abertos (lagoas naturais e tanques artificiais caracterizados por uma baixa relação entre a superfície iluminada e o volume do tanque de cultivo (S/V) e baixo controle das condições ambientais); e sistemas fechados (fotobiorreatores com elevada relação entre a superfície iluminada e o volume da cultura) (TEBBANI *et al.*, 2014).

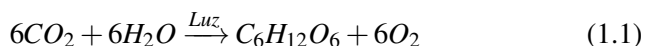
O emprego de fotobiorreatores oferecem muitas vantagens, pois permite o controle das condições hidrodinâmicas da cultura, a redução do risco de contaminação por microrganismos indesejáveis, diminui o consumo de água, além de permitir que seja alcançada alta produtividade em biomassa e apresentar elevada capacidade de fixação de CO₂. No entanto, as suas principais limitações são: os elevados custos de construção e operação, dificuldade em escalar a produção e a formação de biofilmes nas paredes do fotobiorreator, reduzindo a disponibilidade de luz e, conseqüentemente, limitando o processo fotossintético e o crescimento das culturas (UGWU *et al.*, 2008).

A eficiência de um cultivo de microalgas depende da aplicação de diferentes parâmetros ambientais, físicos e biológicos, relacionados com as características intrínsecas das espécies de microalgas, e a geometria

do sistema de produção. Esses parâmetros, não só afetam a atividade fotossintética como a produtividade em biomassa, mas também o comportamento metabólico e fisiológico das microalgas (TEBBANI *et al.*, 2014). Os mais importantes são o regime de luz, a disponibilidade de carbono e de outros nutrientes, a temperatura, o pH, a salinidade e a agitação da cultura (LOURENÇO, 2006). A seleção da cepa de microalga e do sistema de cultivo, mantendo as condições favoráveis para o crescimento da espécie, são pontos chave para a otimização do processo (TEBBANI *et al.*, 2014).

1.2.1 Carbono no cultivo de microalgas

O carbono é considerado como o macronutriente mais importante no cultivo de microalgas, uma vez que constitui ao redor de 50% da biomassa microalgal, compondo todas as substâncias orgânicas das células (CHISTI, 2007). As microalgas convertem o carbono inorgânico em compostos orgânicos por meio da fotossíntese, onde a energia luminosa absorvida por pigmentos, geralmente clorofila, é transformada em energia química na forma de adenosina tri-fosfato (ATP) e adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH). Tais moléculas são utilizadas na fixação e redução do CO₂ para sintetizar carboidratos e outros compostos orgânicos celulares durante a fase escura da fotossíntese (NELSON, 2014). A seguinte equação empírica é comumente usada para descrever a reação global da fotossíntese:



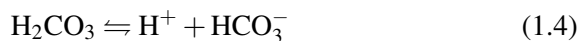
No estroma do cloroplasto, a assimilação do CO₂ é realizada através do Ciclo de Calvin, compreendendo várias reações que ao final levam à produção de carboidratos. A enzima Ribulose Bifosfato Carboxilase Oxigenase (Rubisco) é responsável pela fixação do CO₂ na fase inicial do ciclo, e também por absorver O₂ durante a respiração celular (GOLDMAN *et al.*, 1972). As células das microalgas são capazes de utilizar três diferentes vias de assimilação de carbono inorgânico: (1) assimilação direta do dióxido de carbono através da membrana plasmática; (2) utilização de bicarbonato através da indução da enzima anidrase carbônica, que converte os íons HCO₃⁻ em CO₂; (3) transporte de bicarbonato diretamente através da membrana plasmática (LOPES, 2007). Para a maioria das microalgas o CO₂ é a fonte de carbono

preferida, uma vez que se difunde rapidamente (difusão passiva) da água para o interior das células e é usado diretamente nos processos de fixação. Já o bicarbonato, dependendo da espécie pode ou não ser absorvido até o interior da célula por difusão, no entanto deve ser convertido em CO_2 para assimilação pela enzima Rubisco, gerando um gasto energético para suportar este processo (TREVAN, 2007; GOLDMAN *et al.*, 1972).

1.2.2 Solubilidade do CO_2 na água

A solubilidade do dióxido de carbono na água difere de outros gases, como o oxigênio e o nitrogênio, onde sua concentração na água é determinada tanto pela relação de equilíbrio gás-líquido, quanto por reações ácido-base. O equilíbrio gás-líquido influencia na transferência de CO_2 entre o ar e a água. Já as reações ácido-base determinam a forma química na qual o carbono inorgânico dissolvido está presente na água. A concentração de dióxido de carbono dissolvido está em função do pH e da alcalinidade presente na água (NEVES, 2013; TIMMONS; EBELING, 2013).

O carbono inorgânico no meio cultura pode estar disponível, como, dióxido de carbono (CO_2), ácido carbônico (H_2CO_3), bicarbonato (HCO_3^-) e carbonato (CO_3^{2-}). A soma destas variedades é conhecida como carbono inorgânico dissolvido (DIC) e é um interessante parâmetro para avaliar a quantidade de carbono disponível para fotossíntese (WETZEL; LIKENS, 2000). O pH é o principal fator controlador das reações que regulam o aparecimento das diferentes formas de carbono inorgânico na água e influencia a transferência do CO_2 . Quanto mais ácido maior a proporção de CO_2 (livre), enquanto que, com a elevação do pH as proporções de bicarbonato e carbonato aumentam. As seguintes reações governam o fluxo e a concentração de carbono inorgânico na água.



De acordo com a Lei de Henry, a concentração de CO_2 dissolvido no meio de cultura em equilíbrio (saturação) é diretamente proporcional à pressão parcial de CO_2 , à temperatura e à salinidade (SCHMIDELL, 2001), conforme Equação (1.6). A solubilidade do CO_2 na água aumenta com o aumento da pressão parcial de CO_2 , e diminui com o aumento da temperatura. Por exemplo, no caso da água ser saturada com CO_2 puro (pressão parcial de CO_2 1 atm), a concentração em equilíbrio seria de 1,50 g/L em temperatura de 24°C.

$$C_s = H \cdot p_g \quad (1.6)$$

Onde:

C_s = concentração de CO_2 na saturação (g CO_2 /l)

H = constante de Henry (g CO_2 /l · atm)

p_g = pressão parcial de CO_2 na fase gasosa (atm) = $x_{\text{CO}_2} \cdot P$

x_{CO_2} = fração molar ou volumétrica do CO_2 no gás.

P = pressão total do gás (atm)

1.3 Transferência de massa em reatores de algas

Um sistema de agitação e incorporação de gases tem como objetivo principal, além de manter as microalgas em suspensão, fornecer a quantidade de CO_2 necessária para manter a atividade fotossintética. Assim, o que se visa é transferir o CO_2 da fase gasosa para a fase líquida, possibilitando que este gás dissolvido chegue às células em suspensão, penetre nestas células e, finalmente, seja consumido pelas reações fotossintéticas. Este processo pode ser dividido em três etapas distintas: a primeira diz respeito à dissolução, ou transferência do CO_2 do gás para o líquido, a segunda à eventual difusão do CO_2 até a alga e, por último o consumo do CO_2 (SCHMIDELL, 2001).

A troca do gás para a fase líquida pode ser representada por uma série de resistências no processo de transferência. De acordo com a teoria do filme e da penetração, estas resistências estão localizadas nas finas camadas adjacentes à interface entre as duas fases, ilustradas na Figura 1.1. Em geral, como o O_2 e o CO_2 têm solubilidade baixa, a constante de Henry, H , é grande, desta forma a transferência é controlada principalmente pela resistência do lado líquido (SCHMIDELL, 2001). A taxa de transferência de massa depende da área interfacial (a), do coeficiente de transferência

de massa do líquido (k_L) e da força motriz da concentração de CO_2 ($C^* - C$), Eq. (1.7).

$$\frac{dC}{dt} = k_L a (C^* - C) \quad (1.7)$$

Onde:

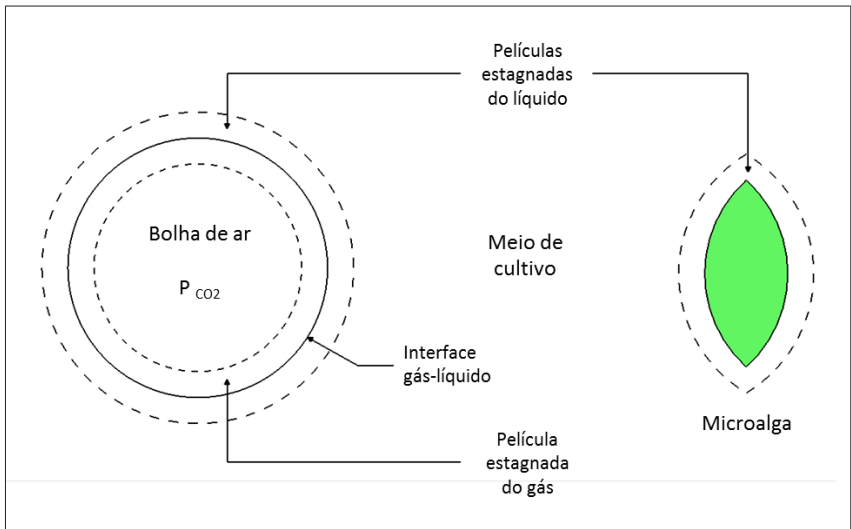
dC/dt = velocidade de transferência do O_2 ($\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}$)

C^* = concentração de saturação de O_2 no líquido, em equilíbrio com p_g , segundo a lei de Henry ($\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$)

C = concentração de O_2 no líquido ($\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$)

p_g = pressão parcial de O_2 na bolha do gás (atm)

Figura 1.1 – Diagrama demonstrando as películas estagnadas que oferecem resistência à transferência de massa gás-líquido em um fotobiorreator.



Fonte: Adaptado de Schmidell (2001), Chisti (1989)

Por sua vez, o coeficiente global de transferência de massa $K_L a(\text{CO}_2)$ descreve a capacidade de transferência de massa de CO_2 de um sistema em particular e pode ser relacionado com o tamanho da bolha, a velocidade de agitação, a temperatura e a taxa de aeração aplicada no reator (TALBOT *et al.*, 1990). O $K_L a(\text{CO}_2)$ pode ser determinado de diversas maneiras,

através de correlações ou métodos experimentais. No entanto, sua estimativa tem sido comumente aplicada para fotobiorreatores através da medição do $K_La(O_2)$, que por sua vez pode ser convertido através de um fator de correção que envolve a difusividade de ambos os gases conforme a Equação (1.8) (TALBOT *et al.*, 1991).

$$K_La(CO_2) = K_La(O_2) [D_{CO_2}/D_{O_2}]^{0,5} \quad (1.8)$$

Onde:

D_{CO_2} e D_{O_2} são valores de difusividade no meio de cultura, do CO_2 e O_2 .

1.3.1 Injeção direta de CO_2 por borbulhamento

Ao contrário do que ocorre com as plantas terrestres, o CO_2 atmosférico não satisfaz quantitativamente os requerimentos de carbono em culturas intensivas de microalgas (GROBBELAAR, 2010). Na maioria dos fotobiorreatores a taxa de transferência gás-líquido é um fator limitante para o crescimento da cultura de microalgas (KUMAR *et al.*, 2010). Diferentes estratégias têm sido desenvolvidas para otimizar a transferência de massa gás-líquido em fotobiorreatores, incluindo a injeção direta do gás através de borbulhamento, o uso de membranas microporosas e misturadores de gases separados (CARVALHO *et al.*, 2006). No entanto, mesmo que muita agitação seja aplicada, a baixa concentração de CO_2 na atmosfera de 0,04% (v/v) não consegue manter a demanda necessária para assimilação de carbono inorgânico durante o crescimento intensivo das microalgas, causando limitação no crescimento e aumento considerável no pH da cultura. Para superar esta limitação, ar enriquecido com CO_2 pressurizado tem sido comumente empregado visando aumentar a pressão parcial do gás injetado nas culturas (GOLDMAN *et al.*, 1981).

Em um fotobiorreator de algas sem um sistema de misturador a introdução de gases desempenha importantes utilidades. Além da suplementação de carbono inorgânico para o metabolismo fotoautotrófico das microalgas, a introdução de ar atmosférico enriquecido com CO_2 deve promover ainda: (i) a mistura do meio de cultura impedindo gradientes de concentração dos nutrientes, assim como a sedimentação das algas e a exposição de todas as células à fonte luminosa (especialmente em culturas muito densas), enquanto minimiza o auto sombreamento e a foto inibição,

(ii) o controle do pH pela dissolução do CO₂, (iii) e a remoção do excesso de O₂ no meio evitando sua toxicidade à cultura (KUMAR *et al.*, 2010).

O borbulhamento de ar enriquecido com CO₂ no fundo do reator ainda é o método mais barato e mais utilizado, especialmente em escala laboratorial (CARVALHO *et al.*, 2006). Geralmente são utilizadas pedras porosas ou canos perfurados com pequenos furos. Alguns parâmetros como tamanho das bolhas, fluxo de aeração e pressão parcial de CO₂ podem ser ajustados para alcançar os requerimentos de uma espécie de alga em particular (TALBOT *et al.*, 1990). No entanto, as principais desvantagens deste método são o problema com a obstrução dos dispositivos de transferência de gases através do crescimento de *biofouling*, e a perda de CO₂ para atmosfera devido ao baixo tempo de resiliência das bolhas na coluna da água uma vez, em geral, que os sistemas de cultivo são rasos (poucos centímetros).

Algumas estratégias têm sido levadas em consideração para diminuir as perdas deste gás para atmosfera. Entre elas estão, (i) balancear o fluxo de aeração com as concentrações de CO₂ aplicadas (alto fluxo com baixas concentrações, baixo fluxo com altas concentrações e fluxos distintos um para o CO₂ e outro para o ar da agitação) (GOLDMAN *et al.*, 1981), (ii) usar reatores com fluxo de ar em série, aumentando tempo de retenção das bolhas (LEE *et al.*, 2015; MORAIS; COSTA, 2007), (iii) a instalação de uma cobertura visando capturar as bolhas sob folhas de plástico (transparentes) posicionadas na superfície da cultura, evitando o escape rápido das borbulhas, (iv) melhorar a taxa de transferência gás-líquido aumentando a eficiência de incorporação do CO₂ (YING *et al.*, 2013). De modo geral, as eficiências de incorporação com borbulhamento ainda são baixas (5% - 30%) e grandes perdas ocorrem para a atmosfera (CARVALHO *et al.*, 2006; KUMAR *et al.*, 2010).

Objetivos

1.1 Objetivo geral

Determinar o efeito de diferentes condições operacionais aplicadas ao sistema de fornecimento de CO₂ por borbulhamento em fotobiorreator laboratorial, visando à otimização da transferência de CO₂ e à produção de biomassa em culturas da microalga nativa *S. obliquus*.

1.2 Objetivos específicos

- Determinar a capacidade e a eficiência na transferência de massa de CO₂ comparando dois tipos de dispersores (difusor e pipeta) empregando três taxas de aeração (0,125, 0,25 e 0,5 vvm).
- Determinar o efeito de diferentes concentrações de CO₂ sob o desempenho quanto ao crescimento (produção de biomassa) e à capacidade e eficiência na fixação de CO₂ em culturas da microalga *S. obliquus*.

Artigo Científico

ESTUDO DA TRANSFERÊNCIA DE CO₂ POR BORBULHAMENTO PARA O CULTIVO DE MICROALGAS EM LABORATÓRIO

O artigo foi formatado segundo as normas da revista *Jornal of Applied Phycology*. Classificação Qualis CAPES A2 na área de Zootecnia e Recursos Pesqueiros e fator de impacto igual a 2,372.

Francisco Pchara, Rafaela Gordo Corrêa, Luis Alejandro Vinatea, Roberto Bianchini Derner.

Federal University of Santa Catarina (UFSC), Laboratory of Algae Culture. Rua dos Coroas, 503 - Barra da Lagoa - CEP: 88061-600 - Florianópolis - SC - Brazil. e-mail: francisco_pchara@hotmail.com

Resumo

Com objetivo de estudar a transferência de CO_2 em um fotobiorreator utilizado para fins laboratoriais foram aplicadas três condições operacionais no sistema de fornecimento de CO_2 por borbulhamento: tamanho de bolhas, taxa de aeração e concentração de CO_2 . Foram empregados dois tipos de difusores de ar (pipeta de vidro e difusor de vidro sinterizado), os quais promoveram diferentes tamanhos de bolhas, e foram comparados sobre três taxas de aeração (0,125, 0,25 e 0,5 vvm) quanto ao coeficiente global de transferência de massa gás-líquido ($k_L a_{\text{CO}_2}$) e a eficiência de captura de CO_2 . A microalga *Scenedesmus obliquus* foi cultivada sobre o emprego de ar atmosférico (0,04% de CO_2) e ar atmosférico enriquecido com CO_2 nas concentrações de 0,5%, 1% e 2%, aplicadas a uma taxa de aeração de 0,25 vvm. Os resultados demonstraram que o $k_L a_{\text{CO}_2}$ foi aumentando tanto com a elevação da taxa de aeração, quanto com a aplicação de bolhas menores (difusor de vidro sinterizado), no entanto, a eficiência de captura do CO_2 foi menor quando foram aplicadas as maiores taxas de aeração. A condição onde foi aplicado o difusor de vidro a uma taxa de aeração de 0,25 vvm proporcionou um $k_L a_{\text{CO}_2}$ de $11,98 \pm 0,6 \text{ h}^{-1}$, considerado crítico (ótimo) para o fotobiorreator deste estudo. O aumento nas concentrações de CO_2 promoveu melhores resultados quanto ao crescimento em biomassa e, conseqüentemente, na fixação de CO_2 nas culturas de *S. obliquus*, no entanto, o aumento também promoveu menores eficiências de fixação de CO_2 . A aplicação de 1% ou 2% de CO_2 não causou diferenças estatísticas significativas em relação ao ganho em biomassa, nem na produtividade das culturas, portanto, visando a otimização do uso do CO_2 - evitando perdas deste gás para atmosfera - a adição de 1% de CO_2 ao gás de entrada foi considerada a concentração crítica (ótima) a ser aplicada no sistema estudado.

Palavras-chave: Biofixação de CO_2 , Coeficiente global de transferência de massa gás-líquido, *Scenedesmus obliquus*, dióxido de carbono.

1 Introdução

A transferência de CO_2 é um processo chave para o desempenho de um fotobiorreator no cultivo de microalgas (Carvalho et al., 2006, Cheng et al., 2006). Conforme Schmidell (2001), um sistema de fornecimento de gases visa prioritariamente a transferência do CO_2 para a fase líquida, fazendo com que este gás dissolvido chegue à células em suspensão, penetre nestas células e, finalmente, seja consumido pelas reações fotossintéticas. Este processo pode ser dividido em três etapas distintas: a primeira diz respeito à dissolução, ou transferência do CO_2 do gás para o líquido, a segunda à eventual difusão do CO_2 até as células algais e, por último o consumo do CO_2 . A soma de todas essas etapas é definida como o coeficiente de transferência de massa gás-líquido (k_{La}) Schmidell (2001). O k_{La} descreve a capacidade de transferência de massa do CO_2 em um sistema em particular e está em função de condições operacionais, mais particularmente na hidrodinâmica dos reatores (Tebbani, 2014). Parâmetros como taxa de aeração, tipo de aspersor e taxa de agitação podem ser ajustados para aumentar o k_{La} em um fotobiorreator (Ugwu et al., 2008).

Devido a baixa pressão parcial de CO_2 na atmosfera (0,04% v/v), o transporte de CO_2 para o meio líquido, normalmente, não consegue manter a demanda necessária para assimilação de carbono inorgânico durante o crescimento intensivo das microalgas, causando limitação no crescimento e aumento considerável no pH da cultura. O aumento da capacidade de transferência de CO_2 pode, em certa medida, aumentar a disponibilidade de carbono inorgânico no cultivo, porém o gradiente de transporte será sempre pequeno, mesmo que muita agitação seja empregada. Logo, a fim de evitar a limitação do carbono inorgânico e o aumento do pH na cultura, o ar injetado nas culturas é comumente enriquecido com CO_2 (Goldman et al., 1981).

Apesar de avanços em métodos que aumentem a capacidade de transporte do CO_2 para o cultivo de microalgas, o método da injeção direta através de borbulhamento de ar enriquecido com CO_2 é a estratégia mais amplamente utilizada principalmente em escala laboratorial (Carvalho et al., 2006). Além de ser uma forma barata de ser implementada na maioria de modelos de reatores, este método é frequentemente usado pois promove outros benefícios ao cultivo: (1) a mistura do meio de cultura impedindo gradientes de concentração dos nutrientes e a sedimentação

das microalgas, além de favorecer a exposição de todas as células à fonte luminosa (especialmente em culturas muito densas), (2) o controle do pH pela dissolução do CO_2 e (3) a remoção do excesso de O_2 no meio, evitando sua toxicidade as células microalgais (Kumar et al., 2010).

A concentração de CO_2 crítica a ser injetada em um cultivo de microalgas deve ser suficiente para satisfazer a quantidade de carbono necessária para o crescimento ótimo da cultura, e não deve exceder um limite superior, evitando assim desperdícios de CO_2 que não seria utilizado pelas algas sendo perdido da cultura para a atmosfera, resultando em poluição ambiental desnecessária (Cheng et al., 2006, Langley et al., 2012).

Em escala laboratorial, a redução do uso de CO_2 pode ter um grande impacto econômico, uma vez que, é estimado que o custo da utilização de CO_2 puro como uma fonte de carbono poderia situar-se entre 8% e 27% dos custos na produção de microalgas (de Godos et al., 2014). Goldman et al. (1981) sugerem que, buscando otimizar o fornecimento de carbono inorgânico em fotobiorreatores aspectos básicos de transporte de massa gás-líquido, tais como a geometria do reator, o tamanho das bolhas, a taxa de aeração, e pressão parcial de CO_2 (P_{CO_2}) ou concentração de CO_2 devem ser avaliados em compreensão das respostas fisiológicas para as várias combinações destes parâmetros.

Com o objetivo de disponibilizar carbono para um ótimo crescimento da microalga *Scenedesmus obliquus* cultivada em um fotobiorreator utilizado para fins laboratoriais, e visando evitar perdas deste gás para atmosfera, foram estudadas três condições operacionais no sistema de fornecimento de CO_2 por borbulhamento. O tamanho de bolhas e a taxa de aeração foram avaliados visando aumentar a capacidade de transferência do CO_2 de forma eficiente. O ar de entrada foi enriquecido com diferentes concentrações de CO_2 , e a performance da alga *S. obliquus* foi avaliada quanto a produtividade em biomassa e a taxa e a eficiência de fixação de CO_2 .

2 Material e Métodos

2.1 Avaliação da transferência de CO_2 no reator

A taxa de aeração e o tamanho de bolhas foram avaliados quanto a transferência de CO_2 no fotobiorreator. Para alcançar diferentes tamanhos de bolhas foram aplicados um difusor construído em vidro sinterizado, com porosidade desconhecida, diâmetro de 1 cm e altura de 2,7 cm e

uma pipeta de vidro com diâmetro interno de 0,3 mm, ambos feitos de materiais autoclaváveis. O tamanho médio das bolhas geradas e o tempo de retenção da bolhas foram medidos por meio de imagens obtidas por câmera digital (Sony, Cyber-shot 16.1 Mp) e tratadas e analisadas em programa de computador ImageJ. (Fig. 2.1). Diferentes fluxos de aeração (0,5, 1 e 2 L min) foram aplicados para cada aspersor proporcionando as taxas de aeração de 0,125, 0,25 e 0,5 vvm.

O coeficiente global de transferência de massa gás-líquido (k_La) para oxigênio foi determinado por meio do método dinâmico, conforme (Schmidell, 2001). Apenas meio de cultura foi usado nos ensaios desconsiderando o efeito da presença de microalgas nos valores de k_La conforme demonstrado por (Langley et al., 2012, Contreras et al., 1998). A concentração de oxigênio dissolvido (OD) no meio de cultura foi medida com o uso de um oxímetro (YSI, YSI Pro ODO). Inicialmente, nitrogênio gasoso foi borbulhado até a concentração de oxigênio chegar a menos de 5% (v/v) de saturação. Foi aplicada a (Eq. 2.1) para estimar os valores de k_La nas condições propostas.

$$\frac{dC}{dt} = k_La(C^* - C) \quad (2.1)$$

Onde:

dC/dt = velocidade de transferência do O_2 ($mg\ O_2\ L^{-1}\ h$)

C^* = concentração de saturação de O_2 no líquido, em equilíbrio com p_g , segundo a lei de Henry ($mg\ O_2\ L^{-1}$)

C = concentração de O_2 no líquido ($mg\ O_2\ L^{-1}$)

p_g = pressão parcial de O_2 na bolha do gás (atm)

Assim como proposto por (Talbot et al., 1991) o $k_La(O_2)$ foi convertido precisamente para $k_La(CO_2)$ empregando a (Eq. 2.2).

$$k_La(CO_2) = k_La(O_2) \left[\frac{D_{CO_2}}{D_{O_2}} \right]^{0,5} \quad (2.2)$$

Onde:

D_{CO_2} e D_{O_2} são valores de difusividade do CO_2 e o do O_2 no meio de cultura.

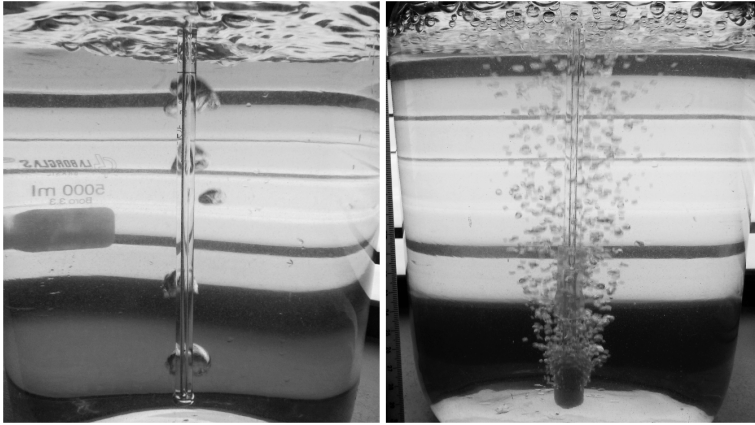


Figura 2.1: Fotobiorreator de uso laboratorial com volume útil de 4,5 L. Imagem a esquerda pipeta de vidro, imagem a direita difusor de vidro sinterizado.

2.1.1 Eficiência de captura de CO_2 (E_{CO_2})

A eficiência de captura do CO_2 (E_{CO_2}) foi determinada nos ensaios de k_La . Foi considerado, de acordo com (Talbot et al., 1990, Ying et al., 2013), que E_{CO_2} , pode ser descrita como a quantidade de CO_2 sendo transferida para o líquido dividida pela quantidade de CO_2 sendo injetada no líquido, de acordo com a Equação 2.3.

$$E_{\text{CO}_2} = \frac{\text{Massa de } \text{CO}_2 \text{ transferida} / \text{tempo}}{\text{Massa de } \text{CO}_2 \text{ injetada} / \text{tempo}} 100\% \quad (2.3)$$

Para cada condição testada, foi considerado que a máxima capacidade de transferência do CO_2 é igual ao produto, $k_La \cdot C^*$, uma vez que após alguns minutos a concentração de CO_2 chega próxima a saturação. Portanto, para calcular a quantidade de CO_2 transferido para o sistema foi considerada a seguinte Equação 2.4.

$$\text{Massa de } \text{CO}_2 \text{ transferida} = k_La(\text{CO}_2) \cdot C^* \cdot V_L \quad (2.4)$$

Onde:

V_L = Volume do líquido

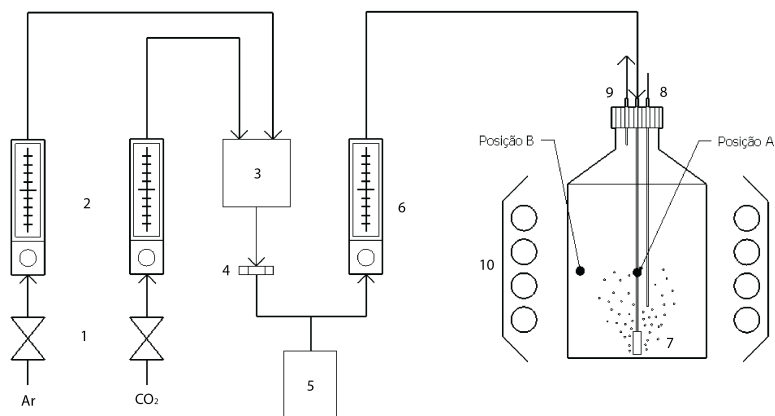


Figura 2.2: – Esquema representando o sistema de fornecimento de CO_2 , com os seguintes equipamentos: (1) Válvulas; (2, 6) rotâmetros com reguladores; (3) misturador de gases; (4) filtro para bactérias; (5) medidor de gases; (7) difusor; (8) amostrador; (9) tampa rosqueável, com entrada e saída de gases; (10) refletor com lâmpadas.

2.2 Efeito do CO_2 no cultivo de *S. obliquus*

2.2.1 Microalga e meio de cultura

A cepa da espécie *S. obliquus* (SOB LCA- 15) utilizada no experimento foi coletada e isolada no Laboratório de Cultivo de Algas (LCA) do Departamento de Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Esta cepa foi escolhida por apresentar ótimos índices de crescimento em cultivos experimentais e em tanques externos do tipo "raceway", sob diversas condições ambientais. A cepa foi identificada através de características morfológicas, e por análise molecular realizada na Universidade Federal do Paraná - UFPR, pelos laboratórios de Genética de Recursos Marinhos - GECEmar e de Genética de Microrganismos - Labgem sendo possível afirmar com mais de 99% de identidade para a espécie *S. obliquus*. As culturas estoques foram mantidas em meio de cultura Bold Basal Medium (BBM) Nichols and Bold (1965) modificado, em frascos de 2 L, numa sala com temperatura de $24^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ controlada com emprego de ar condicionado, com agitação da cultura empregando ar atmosférico com fluxo de aeração de $0,5 \text{ L min}^{-1}$ e enriquecimento com 0,5% de CO_2 (v/v). A composição do meio de cultura está apresentada na

Tabela 2.1: Composição do meio de cultura BBM modificado - 4N.BBMP/3

Componente	Concentração (g L ⁻¹)
NaNO ₃	0,100
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,075
K ₂ HPO ₄	0,025
KH ₂ PO ₄	0,0583
NaCl	0,025
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,025
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	0,050
KOH	0,031
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,005
H ₃ BO ₃	0,01142
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,00882
MnCl ₂ ·4H ₂ O	0,00144
MoO ₃	0,00071
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,00157
Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	0,00049

Baseado em meio de cultura proposto por
Nichols and Bold (1965).

Tabela 2.1.

2.2.2 Condições de Cultivo e Aclimação

Os cultivos foram desenvolvidos em fotobiorreatores cilíndricos de borossilicato de 5 L, com volume útil de 4,5 L e dimensões de 16,5 cm de diâmetro por, 20,5 cm de altura. A temperatura das culturas, foi mantida constante a $24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e monitorada diariamente. Para a iluminação das culturas foram empregadas lâmpadas fluorescentes tubulares tipo Luz do Dia de 80 W, posicionadas a uma distância de 1 cm em ambos lados dos reatores, fornecendo uma irradiância de $618 \mu\text{mol s}^{-1}$ de fótons m^2 na parte externa dos frascos de cultivo. As diferentes concentrações de CO₂ foram atingidas através da mistura de ar atmosférico e de CO₂ puro, controlados por rotâmetros (Aalborg, modelo P) (Fig. 2.2). Antes de chegar aos fotobiorreatores a mistura passava por um misturador para garantir a homogeneidade dos gases e por filtro de (0,2 μm) de porosidade

para evitar a entrada de bactérias. As proporções 0,038, 0,5, 1 e 2% (v/v) foram reguladas pelo controle dos rotâmetros e verificadas diariamente com um medidor de CO₂ (Geotech, G100). A taxa de aeração foi controlada pelo uso de rotâmetros (RWR, Ar comprimido), com fluxo contínuo de 1 L min⁻¹ configurando uma taxa de aeração de 0,25 de volume de gás por volume de meio de cultura por minuto (vvm). Para o preparo do inóculo do experimento, as culturas estoque foram aclimatadas durante 7 dias com intuito de manter as células em fase exponencial de crescimento. As culturas foram concentradas por centrifugação (1,160 x g, 15 min), lavadas com água esterilizada e removido o sobrenadante para retirada de restos de nutrientes. As unidades experimentais foram inoculadas com biomassa correspondente à concentração inicial de 0,232 g L⁻¹.

2.2.3 Parâmetros físicos e químicos

Um radiômetro (LI-COR, LI-250A) foi utilizado para medir a intensidade luminosa em diferentes regiões do reator estudado. Afim de caracterizar o regime de luz durante o cultivo, uma curva de atenuação foi elaborada considerando posição A (Centro) e posição B (Lateral) demonstradas na Figura 2.2.

O carbono inorgânico dissolvido (DIC) foi considerado a soma de CO₂/H₂CO₃, HCO₃⁻ e CO₃⁻² na solução aquosa, no qual pode ser calculado através da Equação 2.5 descrita conforme (Lee et al., 2015):

$$[\text{DIC}] = \left(\frac{\text{TA} + [\text{H}^+] - (K_W / [\text{H}^+])}{([\text{H}^+] / K_2) + 2} \right) \left(1 + \frac{[\text{H}^+]}{K_2} + \frac{[\text{H}^+]^2}{K_1 K_2} \right) \quad (2.5)$$

Onde:

TA = Alcalinidade total em meq/L (medido via titulação);
[H⁺] = a atividade iônica do hidrogênio (i.e., 10^{-pH}) onde o pH da cultura foi medido através de um pHmetro digital (YSI, pH100); K_W, K₁ e K₂ estão em função da temperatura e são constantes de dissociação:

$$K_W = e^{(148,9802(13847,29/T) - 23,6521 \ln T)} \quad (2.6)$$

$$K_1 = 10^{-((6320,80/T) - 126,3405 + 19,568 \ln T)} \quad (2.7)$$

$$K_2 = 10^{-((5143,69/T)-90,1833+14,613\ln T)} \quad (2.8)$$

2.2.4 Determinação dos parâmetros de crescimento celular

A biomassa seca foi medida a cada dois dias. Foram coletadas alíquotas de 20 mL, que foram filtradas em filtro de fibra de vidro (GF-1 0,7 μ m) e secas em estufa a 60 °C, até alcançar peso constante. O crescimento celular (biomassa) foi determinado todos os dias a partir da medição da turbidez e aplicando a equação $C=0,0019 \times OD_{680}$ com $r^2 = 0,98$ proveniente da regressão linear dos dois parâmetros, no qual C é a concentração em biomassa seca (g L⁻¹). Os dados de concentração celular em biomassa foram usados para determinação da Biomassa Máxima Alcançada (B_{\max}), e da Produtividade total (P_{total}). Os parâmetros de crescimento foram avaliados estatisticamente através da análise de variância (ANOVA $\alpha < 0,05$). Quando detectadas diferenças significativas foi aplicado o teste de Tukey, para comparação entre as médias dos tratamentos.

2.2.5 Avaliação da fixação de Carbono

Para determinar a taxa máxima de fixação de CO₂ ($RF_{CO_2 \cdot \max}$) os valores máximos de produtividade foram calculados através de regressão linear aplicada na fase de crescimento exponencial para cada curva de crescimento avaliada. O conteúdo de carbono na biomassa (C_C) foi considerado 50% para aplicação na Equação 2.9). Tang et al. (2011) relataram, através de análise elementar, que a biomassa de *S. obliquus* cultivada sobre diferentes concentrações de CO₂ possui concentração ao redor de 50%.

$$Q_{CO_2} = C_C P_{\max} \left(\frac{M_{CO_2}}{M_C} \right) \quad (2.9)$$

Onde:

C_C = conteúdo de carbono na biomassa algal (% peso/peso);

P_{\max} = produtividade máxima alcançada (g L⁻¹ h⁻¹);

$M_{CO_2} = 44 \text{ g.mol}^{-1}$;

$M_C = 12 \text{ g.mol}^{-1}$.

A eficiência de fixação de CO_2 representa a proporção de CO_2 fixado pela cultura pela quantidade de CO_2 injetada no sistema, e está descrita conforme (Eq. 2.10). A taxa de CO_2 injetada na cultura (V_{CO_2}) foi calculado usando a lei ideal dos gases.

$$\text{Eficiência de fixação de } \text{CO}_2 = C_C P(M_{\text{CO}_2} M_C) V_{\text{CO}_2} 100 \quad (2.10)$$

Onde:

$$V_{\text{CO}_2} = \text{taxa de } \text{CO}_2 \text{ injetada na cultura (g L}^{-1} \text{ h}^{-1}\text{)}$$

3 Resultados e Discussão

3.1 Estudo da transferência de CO_2

O Coeficiente Global de Transferência de Massa Gás-Líquido ($k_L a_{\text{CO}_2}$) foi determinado com o objetivo de comparar o uso de um difusor de vidro sinterizado (menores bolhas) com o uso de uma pipeta de vidro (maiores bolhas), em três taxas de aeração (0,125, 0,25 e 0,5 vvm). Conforme pode ser observado na Figura 3.1 a , o aumento na taxa de aeração provocou maiores valores de $k_L a_{\text{CO}_2}$, tanto para o uso do difusor quanto para o uso da pipeta. Quando comparados entre si, o uso do difusor promoveu maiores valores de $k_L a_{\text{CO}_2}$ do que o uso da pipeta, chegando a um valor máximo de $16,45 \pm 0,36 \text{ h}^{-1}$ obtido na maior taxa de aeração aplicada. O valor máximo de $k_L a_{\text{CO}_2}$ para a pipeta foi de $4,90 \pm 0,19 \text{ h}^{-1}$ na taxa de aeração de 0,5 vvm.

Comumente, os valores de $k_L a$ para fotobiorreatores com emprego de borbulhamento de ar estão na faixa de 5 a 100 h^{-1} (Langley et al., 2012). O baixo tempo de retenção das bolhas na coluna d'água, devido à pequena coluna no fotobiorreator (20,5 cm), demonstrou limitações quanto a transferência de massa de CO_2 no sistema estudado. No entanto, como estratégia para alcançar uma capacidade de transferência de massa gás-líquido satisfatória, altas taxas de aeração foram aplicadas (0,125, 0,25 e 0,5 vvm) com menores bolhas.

O $k_L a$ é composto pelo coeficiente de transferência de massa da fase líquida, (k_L), que depende principalmente das propriedades do líquido (densidade, viscosidade, difusividade, temperatura etc) e a área interfacial, (a), que está em função do *gas holdup* e do tamanho das bolhas (Chisti, 1989). Geralmente, com objetivo de elevar a capacidade de transferência de massa, o *design* e as condições operacionais em fotobiorreatores são

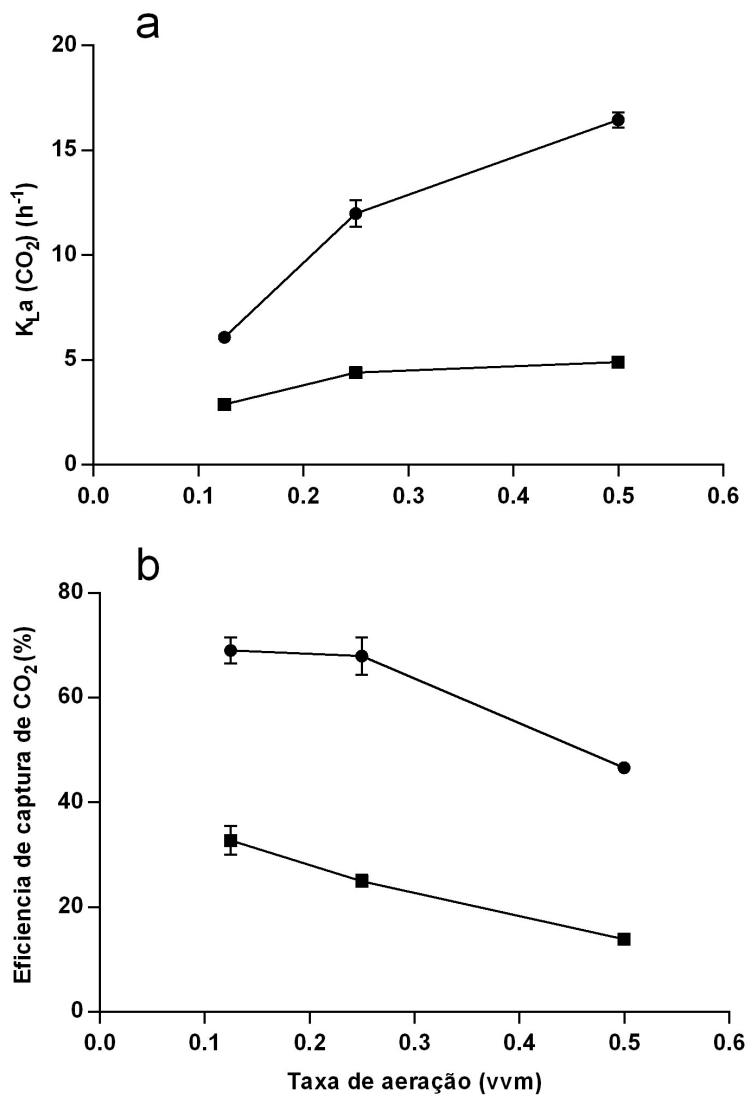


Figura 3.1: (a) $k_L a$ CO₂ em função da taxa de aeração para (■) pipeta e (●) difusor (b), e eficiência de captura de CO₂ em função da taxa de aeração para (■) pipeta e (●) difusor. Cada ponto é o valor médio resultado de triplicatas.

estudadas em busca de aumentar a área interfacial ao máximo (Fan et al., 2008). Talbot et al. (1990) por exemplo, demonstraram que a área interfacial " a " é fortemente dependente do diâmetro médio das bolhas produzidas e do fluxo de aeração aplicado. Neste trabalho, na comparação dos dois dispersores foi possível determinar que o diâmetro médio de bolhas foi 15 vezes menor para o difusor, favorecendo o aumento da área interfacial, o que explica o aumento significativo do $k_L a$. O aumento da taxa de aeração, desconsiderando o tamanho das bolhas, provocou aumento do $k_L a$, provavelmente gerado pelo aumento do *gas holdup*, ou seja, o aumento da fração volumétrica do gás no líquido contido no fotobiorreator (cultura), sendo que, este comportamento tem sido amplamente observado em reatores de coluna de bolhas (Merchuk et al., 2000, Ugwu et al., 2008).

No entanto, o aumento da taxa de aeração também tende a aumentar a velocidade de passagem das bolhas, provocando maiores perdas de CO_2 para atmosfera, consequentemente reduzindo a eficiência de captura do CO_2 (Ying et al., 2013) e, dependendo da espécie cultivada, pode causar dano celular provocado pela agitação intensiva (Contreras et al., 1998, Sobczuk et al., 2005).

A eficiência de captura do CO_2 é um importante parâmetro a ser avaliado para que seja possível a redução da quantidade de CO_2 perdida para atmosfera. Conforme pode ser observado na (Fig. 3.1 b), o aumento das taxas de aeração provocou a redução da eficiência de captura do CO_2 , independentemente do tamanho das bolhas. Entretanto, a redução do tamanho médio das bolhas pelo emprego do difusor causou aumento da eficiência quando as mesmas taxas de aeração foram aplicadas. Ambos efeitos foram similares a outros estudos na área. Ying et al. (2013), ressaltam que a redução do tamanho das bolhas é considerado mais promissor do que o aumento do fluxo de aeração, pois promove efeito positivo tanto na taxa de transferência de CO_2 , quanto na eficiência de captura CO_2 . Desta forma, além de melhorar o desempenho no crescimento das microalgas, deve produzir menores perdas de CO_2 para atmosfera. Ao ser utilizado o difusor de vidro e a aplicação de uma taxa de aeração de $0,25 \text{ vvm}$ foi possível alcançar um valor de $k_L a \text{ CO}_2$ de $11,98 \pm 0,6 \text{ h}^{-1}$ e uma eficiência de captura de CO_2 de $67,94 \pm 3,56\%$. O aumento do fluxo de aeração causou uma redução drástica na eficiência captura de CO_2 para $46,62 \pm 1,02\%$, apesar de ter sido elevado a capacidade de transferência gás-líquido.

3.2 Efeito das concentrações de CO₂ no cultivo de *S. obliquus*

S. obliquus foi cultivada em batelada por aproximadamente 350 h (14 a 15 dias), sob o efeito de diferentes concentrações de CO₂, conforme observado nas curvas de crescimento apresentadas na (Fig. 3.2). Após uma curta fase de adaptação nas primeiras 12 h (Fase Lag), as culturas suplementadas com CO₂ iniciaram crescimento exponencial, onde as máximas produtividades foram alcançadas no período entre 80 a 100 h. A partir deste ponto, a velocidade de crescimento foi reduzida, possivelmente causado pela redução da passagem de luz no fotobiorreator, fenômeno conhecido como autossombreamento. Na Figura 3.3 é apresentada a atenuação da irradiância luminosa no reator à medida que a biomassa aumenta, sendo que foram realizadas medidas em (A) centro do reator e (B) lateral do reator. Entre a concentração em biomassa de 0,2 g L⁻¹ e 1,4 g L⁻¹ as culturas estavam sobre um regime de luminosidade sem sombreamento no meio do reator, consequentemente a disponibilidade de CO₂ para o sistema, durante este período, foi considerado o fator limitante para o crescimento celular, uma vez que, outros nutrientes estavam em excesso no meio. Foi verificado que o nitrato (NO₃) e o fosfato (PO₄) do meio de cultura foram totalmente consumidos apenas no dia 7 (dados não apresentados). Os dados de Produtividade máxima (P_{max}) obtidos neste período foram utilizados para calcular as Taxas máximas de fixação de CO₂ (RF_{CO₂'max}).

O tratamento onde foi empregado apenas o ar atmosférico (0,04% de CO₂) gerou baixo crescimento das culturas, onde após 350 horas foi alcançado uma B_{max} de 1,45 ± 0,10 mg L⁻¹ e uma P_{total} de 3,75 ± 0,31 mg L⁻¹ h⁻¹. O carbono inorgânico dissolvido (DIC) no meio de cultura representa a fonte de carbono para o crescimento das algas, sendo composto por CO₂, HCO₃⁻ e CO₃²⁻. A baixa concentração de CO₂ na atmosfera e a deficiência do sistema de aeração em transferir CO₂ provocaram baixa concentração de DIC no meio de cultura, conforme pode ser percebido na (Fig. 3.4). Reconhecidamente, o aumento da atividade fotossintética na cultura acelera a remoção do dióxido de carbono e a assimilação de nitrato, podendo culminar no aumento do pH no meio para níveis bastante elevados. Possivelmente, a combinação destes fatores tornou o CO₂ escasso no meio líquido e limitante para o crescimento celular.

Conforme observado na Figura 3.6, durante as primeiras 60 h, aproximadamente no terceiro dia de cultivo (período de máxima

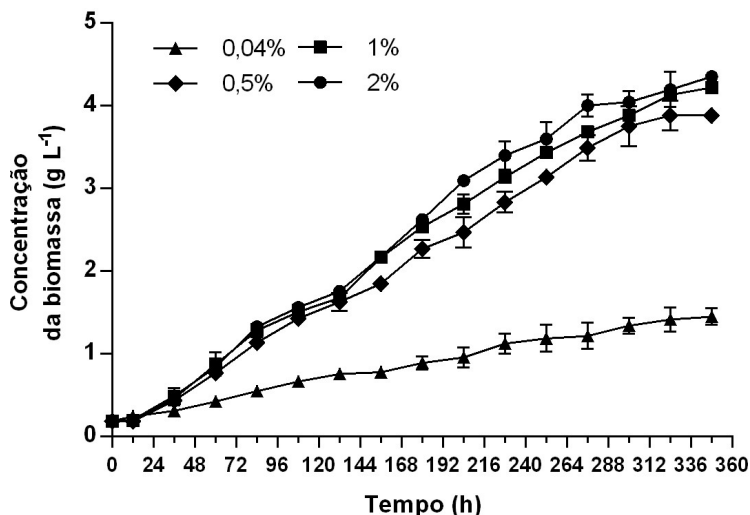


Figura 3.2: Curva de crescimento de *S. obliquus* em biomassa sobre diferentes concentrações de CO₂: 0,04% (▲); 0,5% (◆); 1% (■); 2% (●). Cada ponto nas curvas de crescimentos representam a média entre 3 repetições.

produtividade), o aumento nas concentrações de CO₂ (0,04 - 2% v/v) provocou o aumento das concentrações de DIC no meio de cultura, de 13,47 para 91,35 mg L⁻¹ ao passo que o pH diminuiu de 10,42 para 7,93. Neste ponto do cultivo, o uso de 0,5% de CO₂ promoveu valores de DIC significativamente menores quando comparado com 1% e 2%. No entanto, entre o período de 150 a 350 h as concentrações de DIC estabilizaram, conforme (Fig. 3.4), chegando a uma possível saturação de DIC em todos os tratamentos onde houve a suplementação com CO₂. Neste período, uma pequena diferença foi observada entre os valores médios de $143,7 \pm 0,97$ para $149,65 \pm 1,16$ nas concentrações 0,5% e 2%, respectivamente. A acumulação de DIC foi portanto, mais rápida nas primeiras horas, para as condições de 1% e 2% de CO₂, diferente da aplicação de 0,5%.

Os diferentes tratamentos proporcionaram distintas respostas quanto ao pH no meio de cultura, conforme observado na Figura 3.5. Durante as primeiras 40 h o pH aumentou rapidamente em todas os tratamentos devido ao período de crescimento exponencial, onde provavelmente a taxa de fixação do CO₂ pela cultura foi maior que a taxa de dissolução do gás.

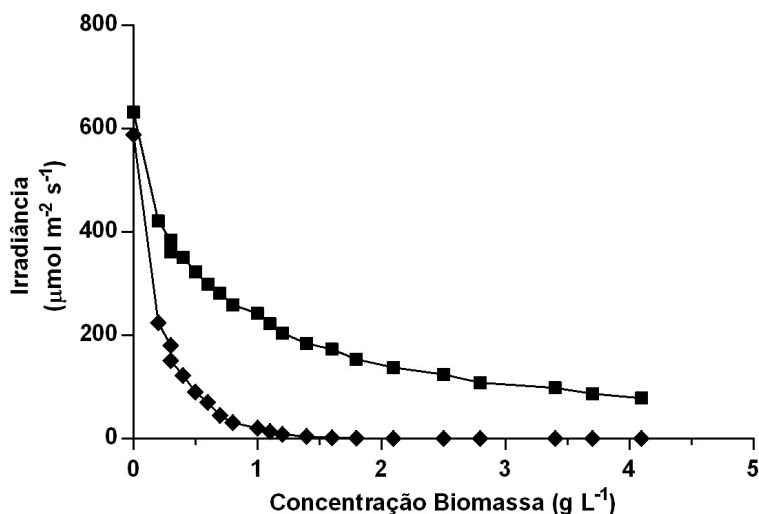


Figura 3.3: Irradiância no fotobiorreator em função da concentração celular em biomassa de *S. obliquus*. Posição A (◆) no centro do reator, posição B (■) na lateral do reator.

Após aproximadamente 84 h os valores de pH se mantiveram constantes (7,8 e 8,7) nos tratamentos com o enriquecimento com CO₂.

Reconhecidamente, o pH é um fator controlador das reações que regulam o aparecimento das diferentes formas de DIC na cultura, influenciando a transferência de massa do CO₂ no sistema (Wetzel and Likens, 2010). Para *S. obliquus*, além de absorver CO₂ de forma passiva, existem fortes evidências que HCO₃⁻ é diretamente absorvido pela alga através de uma bomba de bicarbonato que é ativada pelo consumo de um ATP (Moroney, 1999, Thielmann et al., 1990). Por este motivo, provavelmente esta microalga é capaz de manter a atividade fotossintética em pH elevado, próximo a 9,5, onde HCO₃⁻ ainda está disponível na água em condições padrões de temperatura e salinidade. No entanto, alguns estudos sugerem que microalgas do gênero *Scenedesmus* preferem absorver CO₂ ao invés de bicarbonato em meio mais saturado de CO₂, provavelmente por ser uma opção de menor gasto energético para as células. Yang and Gao (2003) demonstraram que através da redução do pH da cultura, consequentemente aumentando a concentração de CO₂ no meio (3, 21 e 186 μM CO₂) em uma concentração constante de DIC (1,68 mM), foi possível aumentar a taxa de crescimento específica em culturas

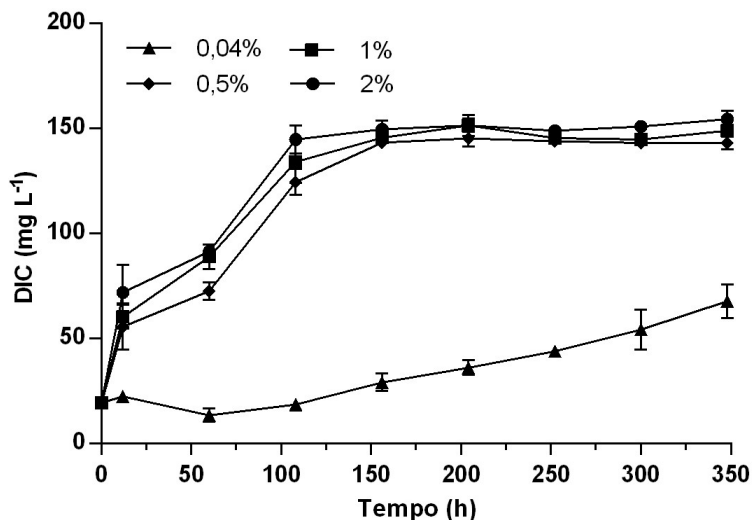


Figura 3.4: Acúmulo de carbono inorgânico dissolvido no cultivo de *S. obliquus* em função do tempo sobre as seguintes concentrações de CO₂: 0,04% ▲; 0,5% ◆; 1% ■; 2% ●.

de *S. obliquus*. Azov (1982) também cultivou *S. obliquus* adaptada à altas concentrações de CO₂ fornecendo DIC em uma concentração controlada com pHs entre 8,1 a 9,3 (aumento de 0,2 entre os tratamentos) e obteve uma taxa específica de fixação de CO₂ constante para todos os tratamentos aplicados nesta variação de pH. Os resultados do pH, obtidos nestes estudo, estão em acordo com os dados demonstrados por este autor, portanto, o efeito fisiológico do pH provavelmente não causou variação no crescimento de *S. obliquus* nos tratamentos onde ar foi enriquecido com CO₂.

Conforme pode ser observado em Tabela 3.1, o aumento nas concentrações de CO₂ provocou melhores condições para o crescimento da microalga quanto ao ganho em biomassa. Foi alcançada uma Biomassa Máxima (B_{\max}) de $3,93 \pm 0,09$, $4,22 \pm 0,02$ e $4,35 \pm 0,06$ g L⁻¹ e Produtividade total (P_{total}) de $10,99 \pm 0,31$, $12,00 \pm 0,07$ e $12,39 \pm 0,19$ mg L⁻¹ h⁻¹ nas concentrações de 0,5%, 1% e 2%, respectivamente. Apesar das curvas de crescimento terem seguido tendências bastante similares quanto ao ganho em biomassa entre os tratamentos onde as culturas receberam ar enriquecido com CO₂, a aplicação de 1% e 2% promoveu os maiores valores tanto para B_{\max} quanto para P_{total} , não

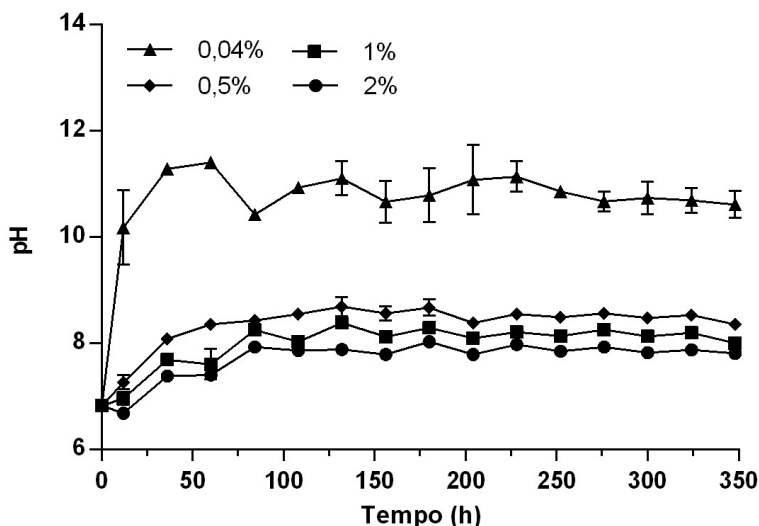


Figura 3.5: Resposta do pH ao longo do tempo no cultivo da *S. obliquus* sobre as seguintes concentrações de CO₂: 0,04% ▲; 0,5% ◆; 1% ■; 2% ●.

havendo diferença significativa entre os dois tratamentos.

Tipicamente, valores de P_{total} para *S. obliquus* têm sido reportados na literatura entre uma faixa de 5,83 a 35,17 mg L⁻¹ h⁻¹ sobre emprego de altas concentrações de CO₂ e aplicando irradiâncias com valores de 35 a 420 μmols⁻¹ de fótons m² s⁻¹ (Kaewkannetra et al., 2012, de Moraes and Costa, 2007, Tang et al., 2011, Yoo et al., 2010, Ho et al., 2012). De modo geral, o foco destes estudos tem sido demonstrar a capacidade da *S. obliquus* em tolerar altas concentrações de CO₂ (5% a 50%), sobre a premissa de utilizar efluentes gasosos provenientes de processos industriais. Tang et al. (2011) por exemplo, cultivaram *S. obliquus* em um fotobiorreator de 1 L, numa taxa de aeração de 0,25 v.v.m sobre emprego de diferentes concentrações (0,03%, 5%, 10%, 20%, 30% e 50%) e obtiveram melhores resultados usando 10% de CO₂ com valores médios para B_{max} de 1,84 ± 0,01 g L⁻¹ e P_{max} de 6,58 ± 0,17 mg L⁻¹ h⁻¹. Ho et al. (2010) obtiveram melhores resultados cultivando *S. obliquus* aplicando uma concentração de 10% de CO₂ com valores de B_{max} de 3,51 g L⁻¹ e P_{total} de 12,17 mg L⁻¹ h⁻¹ em um fotobiorreator com capacidade para 1 L. Os resultados obtidos por estes autores, demonstram ainda que concentrações acima de 10% afetaram negativamente o crescimento da

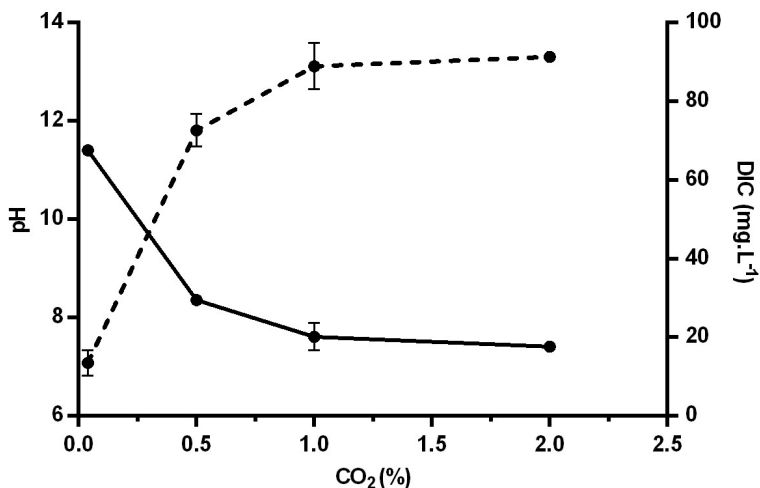


Figura 3.6: Relação entre pH e concentração de carbono inorgânico dissolvido (DIC) em função do aumento na concentração de CO₂ no dia 3 de cultivo. Linha contínua (—) representa pH e linha descontinua (- -) representa DIC.

microalga. O excesso de CO₂ no meio de cultura pode causar diminuição dos valores de pH e conseqüentemente acidificação intracelular, levando a inibição da enzima Carbono Anidrase, responsável pela concentração de carbono na célula, o que gera efeitos negativos ao crescimento celular (Sato et al., 2001). Chiu et al. (2008) reportaram completa inibição do crescimento de *Chlorella* sp. quando 5%, 10% e 15% de CO₂ foram aplicadas ao cultivo, e melhores resultados foram alcançados aplicando 2% de CO₂ atingindo B_{max} 1,2 g L⁻¹. No entanto, a tolerância a altas concentrações de CO₂ pode variar de espécie para espécie (Singh and Singh, 2014). Deve-se notar que as concentrações de CO₂ aplicadas não estão relacionadas ao desempenho do sistema de cultivo nestes casos, mas são uma indicação da tolerância da espécie para o pH e às concentrações de CO₂ aplicadas.

Quando ar é enriquecido com CO₂ e injetado em um cultivo de microalgas o fluxo total de CO₂ transferido está relacionado à taxa de aeração, à concentração ou P_{CO_2} e à capacidade de transferência de CO₂. Märkl (1977) estudando o efeito da intensidade luminosa em função da concentração de CO₂ aplicada ao cultivo de microalgas, relatou que a concentração de CO₂ crítica injetada em um fotobiorreator

Tabela 3.1: Biomassa máxima alcançada (B_{\max}), Produtividade total em biomassa (P_{total}), Produtividade máxima (P_{\max}) determinada a partir de regressão linear da curva de crescimento e a taxa de fixação máxima ($RF_{CO_2 \max}$) para *S. obliquus* sob diferentes concentrações de CO_2 .

Concentração de CO_2 (%)	B_{\max} (mg L ⁻¹)	P_{total} (mg L ⁻¹ h ⁻¹)	P_{\max} (mg L ⁻¹ h ⁻¹)	R^2	$RF_{CO_2 \max}$ (mg L ⁻¹ h ⁻¹)
0,04	1,45 ± 0,10 c	03,75 ± 0,31 c	04,89 ± 0,41	0,9145	07,66 ± 2,00
0,5	3,93 ± 0,09 b	10,99 ± 0,18 b	12,96 ± 0,67	0,9733	23,58 ± 1,30
1	4,22 ± 0,02 a	12,00 ± 0,07 a	15,29 ± 1,00	0,9587	28,00 ± 1,33
2	4,35 ± 0,06 a	12,39 ± 0,19 a	15,51 ± 0,84	0,9718	28,61 ± 1,01

Valores expressos como média ± desvio padrão.

Letras minúsculas diferentes representam diferenças estatísticas.

Os valores obtidos para P_{\max} foram calculados por regressão linear das curvas de crescimento durante fase de crescimento exponencial.

é dependente do regime de luz e do coeficiente de transferência de CO_2 específicos de cada sistema. Desta forma, sendo que não existem padrões de fotobiorreatores estabelecidos, não é possível determinar uma concentração crítica de CO_2 a ser aplicada para uma espécie em particular.

No presente trabalho, a taxa e a eficiência de fixação de CO₂ foram avaliadas sobre efeito do aumento das concentrações de CO₂ no cultivo de *S. obliquus* em fotobiorreator de 4,5 L aplicando uma taxa de aeração de 0,25 vvm, que proporcionou um $k_L a$ CO₂ de $11,89 \pm 0,4 \text{ h}^{-1}$. As maiores taxas de fixação foram obtidas com aumento da concentração de CO₂, ao contrário da eficiência de fixação que foi menor conforme mais CO₂ foi fornecido. Esta relação inversa entre a taxa e a eficiência fixação de CO₂ pode ser visualizada na (Fig. 3.7). Zhang et al. (2002) avaliaram o aumento da taxa de aeração utilizando 5% e 10% de CO₂ sobre o crescimento da alga *Synechocystis aquatilis*, e definiram dois estágios, onde o aumento da taxa de aeração provocou diferentes efeitos na produtividade da cultura e na eficiência de fixação do CO₂. Ao ser dobrada a taxa de aeração (de 0,0025 para 0,005 vvm) as culturas desta microalga tiveram um ganho de 70% em produtividade. Logo, a partir deste ponto com o aumento de 20 vezes na vazão de aeração (de 0,005 para 0,1 vvm), o ganho foi de apenas 50%. Os autores definiram que um ponto de interseção deve ser determinado entre estas duas situações, visando aumentar a produtividade da cultura e fixar carbono de forma eficiente. Neste estudo, o aumento das concentrações de CO₂ de 0,04% para 1% provocou ganho em produtividade de 72,3%. Quando maiores concentrações de CO₂ foram aplicadas (entre 1% e 2%) o aumento na produtividade da cultura foi de apenas 2,3%, enquanto a eficiência de fixação do CO₂ diminuiu de 10,21% para 5,28%.

Presume-se que quando o CO₂ foi empregado em concentrações abaixo de 1% a transferência de massa deste gás foi um fator limitante para o crescimento das culturas, sendo que os menores valores para os parâmetros de crescimento foram obtidos nesta faixa. A provável limitação quanto a transferência de CO₂, também condiz com os dados apresentados para DIC no meio, discutidas anteriormente. A estabilização da taxa de fixação do CO₂ (acima de 1%), neste caso, pode ter ocorrido devido à saturação de DIC na cultura. A partir deste ponto, o aumento da concentração de CO₂ teve pouco efeito na taxa de fixação, apenas aumentando as perdas de CO₂ para atmosfera, o que pode, consequentemente, levar a um aumento dos custos de produção da biomassa.

Considerando tanto a maior produtividade, quanto a maior eficiência na fixação de CO₂, a suplementação de 1% foi considerada a concentração mais efetiva, definida como concentração de CO₂ crítica a ser aplicada nas culturas de *S. obliquus* desenvolvidas neste trabalho. Langley et al.

(2012), encontraram este ponto definido como pressão parcial crítica de CO_2 ($P_{\text{CO}_2, \text{CRIT}}$), que é o menor valor da pressão parcial de CO_2 no gás de entrada, que facilite a taxa de transferência gás-líquido de CO_2 , sendo igual à taxa máxima no qual o CO_2 pode ser utilizado através da fotossíntese. Desta forma, o aumento da concentração de CO_2 no gás de entrada acima da concentração crítica acarretaria em pouco ou nenhum ganho em produtividade para a cultura e consequentemente leva a diminuição da eficiência de fixação do CO_2 . Em um cultivo de *Chlorella vulgaris* em um fotobiorreator *airlift* com volume de 3,8 L, os autores determinaram a $P_{\text{CO}_2, \text{CRIT}}$ de 0,0012 atm (0,12%) e obtiveram valores máximos de produtividade ($13 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) e atingindo uma remoção de CO_2 de 26% (Langley et al., 2012). A diferença entre as concentrações aplicadas em ambos estudos pode estar ligada principalmente à diferença no $k_L a$ CO_2 de $33,84 \text{ h}^{-1}$, pelo regime de luz empregado e pela diferença fisiológica entre as espécies.

Devido à baixa taxa de transferência de massa gás-líquido no sistema, apesar do desejado aumento na produtividade com o emprego de maior concentração de CO_2 , um efeito negativo ocorreu em relação à eficiência de fixação de CO_2 . A mesma relação foi observada em outros estudos onde foi avaliada a remoção de CO_2 sobre emprego de baixas concentrações de CO_2 Cheng et al. (2006), Langley et al. (2012). Ambos parâmetros, eficiência de fixação e remoção de CO_2 , determinam a eficiência do cultivo em se tratando da assimilação do carbono injetado, entretanto, a remoção de CO_2 representa a quantidade total absorvida pelo sistema, considerando outras formas de absorção do carbono (acúmulo de DIC, biomineralização) não apenas a porção fixada pela cultura. Do ponto de vista de engenharia, o desempenho da maioria dos fotobiorreatores usados com a finalidade de sequestrar carbono é insatisfatório em termos de eficiência de fixação ou remoção do CO_2 (Cheng et al., 2006). Alguns avanços têm sido reportados quanto ao aumento da eficiência de remoção de CO_2 (Chiu et al., 2009, de Godos et al., 2014), porém, num âmbito geral, quando são aplicadas altas concentrações pouco do que é injetado em uma cultura é absorvido pelo sistema ou fixado pelas microalgas.

O cultivo de microalgas em escala laboratorial em batelada é usualmente feito com materiais simples e de fácil esterilização, como frascos ou garrações de vidro (Martínez-Jerónimo and Espinosa-Chávez, 1994), e geralmente fotobiorreatores utilizados nesta condição são caracterizados por baixa capacidade de transferência de massa gás-líquido e consequentemente baixa eficiência na fixação de CO_2 . Algumas

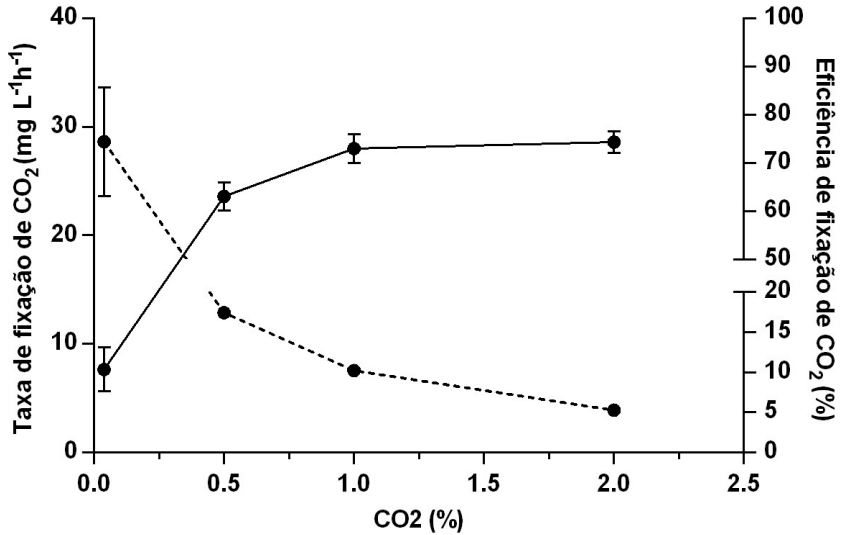


Figura 3.7: Relação entre a taxa máxima de fixação de CO₂ e a eficiência de fixação de CO₂ em função da concentração de CO₂ no cultivo de *S. obliquus*. Linha contínua (—) representa taxa de fixação de CO₂ e linha descontinua (- -) representa eficiência de fixação de CO₂

estratégias para aumentar a recuperação de CO₂ têm sido apresentadas na literatura, podendo ser implementadas nestes modelos de reatores. O uso de membranas de fibras ocas tem sido apontado como uma estratégia de maior eficiência de fixação de CO₂ quando comparadas ao uso de borbulhamento de ar enriquecido com CO₂ no fundo do reator (Carvalho and Malcata, 2001). No entanto, problemas com incrustamento e resistência pela pressão ainda devem ser resolvidos (Cheng et al., 2006). O uso de fotobiorreatores com sistema de fluxo gasoso sequenciado é outra estratégia interessante do ponto de vista de aproveitamento do espaço e paralelamente de reuso do fluxo de CO₂, sem a necessidade de colunas muito elevadas (Lee et al., 2015). O maior problema encontrado nesses sistemas é o acúmulo de O₂, que pode diminuir as taxas fotossintéticas e provocar perdas em produtividade. Provavelmente, após a definição de uma concentração crítica de CO₂ a aplicação de pulsos de CO₂ possa ser uma estratégia que aumente a eficiência na fixação de CO₂ sem perdas na produtividade da cultura, uma vez que após a saturação do gás no sistema a maior fração do que é injetado é perdida para atmosfera.

Neste estudo, a aplicação de um fluxo contínuo de ar enriquecido com CO₂ causou baixos valores na eficiência de fixação de CO₂. Todavia, a aplicação do difusor de vidro sinterizado, que pode ser facilmente limpo e reutilizado, demonstrou um ganho na capacidade de transferência de massa gás-líquido pela diminuição do diâmetro médio das borbulhas e pelo aumento da área interfacial no $k_L a$ CO₂. O aumento do fluxo de aeração no reator permitiu um aumento dos valores de $k_L a$ CO₂, e paralelamente aumento das perdas de CO₂ para atmosfera. Em concentração acima de 1% de CO₂ gerou um efeito significativo no crescimento das culturas de *S. obliquus*, no entanto, o aumento da concentração causou um efeito negativo em relação à eficiência de fixação do CO₂. Assim, visando à obtenção de ótimo crescimento em termos da produção em biomassa, bem como, à otimização do emprego do CO₂ - evitando perdas deste gás para a atmosfera - conclui-se que o emprego de 1% de CO₂ ao gás de entrada nas culturas é a concentração crítica a ser aplicada no sistema estudado.

Referências Bibliográficas

- Azov, Y. (1982). Effect of pH on Inorganic Carbon Uptake in Algal Cultures. *Appl. Environ. Microbiol.*, 43(6):1300–1306.
- Carvalho, A. P. and Malcata, F. X. (2001). Transfer of carbon dioxide within cultures of microalgae: Plain bubbling versus hollow-fiber modules. *Biotechnol Progress*, 17(2):265–272.
- Carvalho, A. P., Meireles, L. A., and Malcata, F. X. (2006). Microalgal reactors: A review of enclosed system designs and performances. *Biotechnol Progress*, 22(6):1490–1506.
- Cheng, L., Zhang, L., Chen, H., and Gao, C. (2006). Carbon dioxide removal from air by microalgae cultured in a membrane-photobioreactor. *Separation and Purification Technology*, 50(3):324–329.
- Chisti, Y. (1989). *Airlift Bioreactors (Applied Biotechnology Series)*. Springer.
- Chiu, S.-Y., Kao, C.-Y., Chen, C.-H., Kuan, T.-C., Ong, S.-C., and Lin, C.-S. (2008). Reduction of CO₂ by a high-density culture of *Chlorella* sp. in a semicontinuous photobioreactor. *Bioresource Technology*, 99(9):3389–3396.

- Chiu, S.-Y., Tsai, M.-T., Kao, C.-Y., Ong, S.-C., and Lin, C.-S. (2009). The air-lift photobioreactors with flow patterning for high-density cultures of microalgae and carbon dioxide removal. *Eng. Life Sci.*, 9(3):254–260.
- Contreras, A., Garcia, F., Molina, E., and Merchuk, J. C. (1998). Interaction between CO₂-mass transfer, light availability, and hydrodynamic stress in the growth of *phaeodactylum tricornutum* in a concentric tube airlift photobioreactor. *Biotechnol. Bioeng.*, 60(3):317–325.
- de Godos, I., Mendoza, J., Acien, F., Molina, E., Banks, C., Heaven, S., and Rogalla, F. (2014). Evaluation of carbon dioxide mass transfer in raceway reactors for microalgae culture using flue gases. *Bioresource Technology*, 153:307–314.
- de Morais, M. G. and Costa, J. A. V. (2007). Biofixation of carbon dioxide by *spirulina* sp. and *scenedesmus obliquus* cultivated in a three-stage serial tubular photobioreactor. *Journal of Biotechnology*, 129(3):439–445.
- Fan, L.-H., Zhang, Y.-T., Zhang, L., and Chen, H.-L. (2008). Evaluation of a membrane-sparged helical tubular photobioreactor for carbon dioxide biofixation by *chlorella vulgaris*. *Journal of Membrane Science*, 325(1):336–345.
- Goldman, J. C., Dennett, M. R., and Riley, C. B. (1981). Inorganic carbon sources and biomass regulation in intensive microalgal cultures. *Biotechnol. Bioeng.*, 23(5):995–1014.
- Ho, S.-H., Chen, C.-Y., and Chang, J.-S. (2012). Effect of light intensity and nitrogen starvation on CO₂ fixation and lipid/carbohydrate production of an indigenous microalga *scenedesmus obliquus* CNW-n. *Bioresource Technology*, 113:244–252.
- Ho, S.-H., Chen, W.-M., and Chang, J.-S. (2010). *Scenedesmus obliquus* CNW-n as a potential candidate for CO₂ mitigation and biodiesel production. *Bioresource Technology*, 101(22):Ho2010.
- Kaewkannetra, P., Enmak, P., and Chiu, T. (2012). The effect of CO₂ and salinity on the cultivation of *scenedesmus obliquus* for biodiesel

- production. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 17(3):591–597.
- Kumar, A., Ergas, S., Yuan, X., Sahu, A., Zhang, Q., Dewulf, J., Malcata, F. X., and van Langenhove, H. (2010). Enhanced CO₂ fixation and biofuel production via microalgae: recent developments and future directions. *Trends in Biotechnology*, 28(7):371–380.
- Langley, N., Harrison, S., and van Hille, R. (2012). A critical evaluation of CO₂ supplementation to algal systems by direct injection. *Biochemical Engineering Journal*, 68:70–75.
- Lee, J. Y., Hong, M.-E., Chang, W. S., and Sim, S. J. (2015). Enhanced carbon dioxide fixation of *Haematococcus pluvialis* using sequential operating system in tubular photobioreactors. *Process Biochemistry*, 50(7):1091–1096.
- Märkl, H. (1977). CO₂ transport and photosynthetic productivity of a continuous culture of algae. *Biotechnol. Bioeng.*, 19(12):1851–1862.
- Martínez-Jerónimo, F. and Espinosa-Chávez, F. (1994). A laboratory-scale system for mass culture of freshwater microalgae in polyethylene bags. *Journal of Applied Phycology*, 6(4):423–425.
- Merchuk, J., Gluz, M., and Mukmenev, I. (2000). Comparison of photobioreactors for cultivation of the red microalga *Porphyridium* sp. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 75(12):1119–1126.
- Moroney, J. V. (1999). How do algae concentrate CO₂ to increase the efficiency of photosynthetic carbon fixation? *PLANT PHYSIOLOGY*, 119(1):9–16.
- Nichols, H. W. and Bold, H. C. (1965). *Trichosarcina polymorpha* gen. et sp. nov. *Journal of Phycology*, 1(1):34–38.
- Satoh, A., Kurano, N., and Miyachi, S. (2001). *Photosynthesis Research*, 68(3):215–224.
- Schmidell, W. (2001). *Biotechnologia Industrial - Volume 2 (Em Portuguese do Brasil)*. Edgard Blucher.

- Singh, S. and Singh, P. (2014). Effect of CO_2 concentration on algal growth: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 38:172–179.
- Sobczuk, T. M., Camacho, F. G., Grima, E. M., and Chisti, Y. (2005). Effects of agitation on the microalgae *Phaeodactylum tricornutum* and *Porphyridium cruentum*. *Bioprocess Biosyst Eng*, 28(4):243–250.
- Talbot, P., Gortares, M. P., Lencki, R. W., and de la Noüe, J. (1991). Absorption of CO_2 in algal mass culture systems: A different characterization approach. *Biotechnol. Bioeng.*, 37(9):834–842.
- Talbot, P., Lencki, R. W., and de la Noüe, J. (1990). Carbon dioxide absorption characterization of a bioreactor for biomass production of *Phormidium bohneri*: comparative study of three types of diffuser. *Journal of Applied Phycology*, 2:341–350.
- Tang, D., Han, W., Li, P., Miao, X., and Zhong, J. (2011). CO_2 biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO_2 levels. *Bioresource Technology*, 102(3):3071–3076.
- Tebbani, S. (2014). *CO₂ biofixation by microalgae : modeling, estimation and control*. ISTE John Wiley & Sons, London Hoboken, NJ.
- Thielmann, J., Tolbert, N. E., Goyal, A., and Senger, H. (1990). Two systems for concentrating CO_2 and bicarbonate during photosynthesis by *Scenedesmus*. *PLANT PHYSIOLOGY*, 92(3):622–629.
- Ugwu, C., Aoyagi, H., and Uchiyama, H. (2008). Photobioreactors for mass cultivation of algae. *Bioresource Technology*, 99(10):4021–4028.
- Wetzel, R. G. and Likens, G. E. (2010). *Limnological Analyses*. Springer.
- Yang, Y. and Gao, K. (2003). *Journal of Applied Phycology*, 15(5):379–389.
- Ying, K., Al-Mashhadani, M. K. H., Hanotu, J. O., Gilmour, D. J., and Zimmerman, W. B. (2013). Enhanced mass transfer in microbubble driven airlift bioreactor for microalgal culture. *Engineering*, 05(09):735–743.

- Yoo, C., Jun, S.-Y., Lee, J.-Y., Ahn, C.-Y., and Oh, H.-M. (2010). Selection of microalgae for lipid production under high levels carbon dioxide. *Bioresource Technology*, 101(1):S71–S74.
- Zhang, K., Kurano, N., and Miyachi, S. (2002). Optimized aeration by carbon dioxide gas for microalgal production and mass transfer characterization in a vertical flat-plate photobioreactor. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 25(2):97–101.

Referências Bibliográficas Introdução

- BARSANTI, L.; GUALTIERI, P. *Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology, Second Edition*. [S.l.]: CRC Press, 2014. ISBN 1439867321.
- CARVALHO, A. P.; MEIRELES, L. A.; MALCATA, F. X. Microalgal reactors: A review of enclosed system designs and performances. *Biotechnol Progress*, Wiley-Blackwell, v. 22, n. 6, p. 1490–1506, 2006.
- CHEN, C.-Y.; YEH, K.-L.; AISYAH, R.; LEE, D.-J.; CHANG, J.-S. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review. *Bioresource Technology*, Elsevier BV, v. 102, n. 1, p. 71–81, jan 2011.
- CHISTI, Y. *Airlift Bioreactors (Applied Biotechnology Series)*. [S.l.]: Springer, 1989. ISBN 1851663207.
- CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, Elsevier BV, v. 25, n. 3, p. 294–306, maio 2007.
- DERNER, R. B.; OHSE, S.; VILLELA, M.; CARVALHO, S. M. de; FETT, R. Microalgas, produtos e aplicações. *Cienc. Rural*, FapUNIFESP (SciELO), v. 36, n. 6, p. 1959–1967, dec 2006.
- GILL, I.; VALIVETY, R. Polyunsaturated fatty acids, part 1: Occurrence, biological activities and applications. *Trends in Biotechnology*, Elsevier BV, v. 15, n. 10, p. 401–409, oct 1997.
- GOLDMAN, J. C.; DENNETT, M. R.; RILEY, C. B. Inorganic carbon sources and biomass regulation in intensive microalgal cultures. *Biotechnol. Bioeng.*, Wiley-Blackwell, v. 23, n. 5, p. 995–1014, maio 1981.
- GOLDMAN, J. C.; PORCELLA, D. B.; MIDDLEBROOKS, E. J.; TOERIEN, D. F. The effect of carbon on algal growth—its relationship to eutrophication. *Water Research*, Elsevier BV, v. 6, n. 6, p. 637–679, jun 1972.

- GROBBELAAR, J. U. Microalgal biomass production: challenges and realities. *Photosynth Res*, Springer Science + Business Media, v. 106, n. 1-2, p. 135–144, jun. 2010.
- KADAM, K. L. Power plant flue gas as a source of CO₂ for microalgae cultivation: Economic impact of different process options. *Energy Conversion and Management*, Elsevier BV, v. 38, p. S505–S510, jan 1997.
- KUMAR, A.; ERGAS, S.; YUAN, X.; SAHU, A.; ZHANG, Q.; DEWULF, J.; MALCATA, F. X.; LANGENHOVE, H. van. Enhanced CO₂ fixation and biofuel production via microalgae: recent developments and future directions. *Trends in Biotechnology*, Elsevier BV, v. 28, n. 7, p. 371–380, jul. 2010.
- LAVENS, P.; SORGELOOS, P. *Manual on the production and use of live food for aquaculture*. Fisheries Technial Paper. No. 361 Rome, 1996.
- LEE, J. Y.; HONG, M.-E.; CHANG, W. S.; SIM, S. J. Enhanced carbon dioxide fixation of haematococcus pluvialis using sequential operating system in tubular photobioreactors. *Process Biochemistry*, Elsevier BV, v. 50, n. 7, p. 1091–1096, jul. 2015.
- LEE, R. E. *Phycology*. [S.l.]: Cambridge University Press, 1999. ISBN 0521638836.
- LOPES, E. J. *Sequestro de dióxido de carbono em fotobiorreatores*. Tese (Doutorado) — Universidade Estadual de Campinas - Faculdade de Engenharia Química, 2007.
- LOURENÇO, S. de O. *Cultivo de microalgas marinhas : princípios e aplicações*. São Carlos: RiMa, 2006. ISBN 8576561131.
- MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Elsevier BV, v. 14, n. 1, p. 217–232, jan 2010.
- MORAIS, M. G. de; COSTA, J. A. V. Biofixation of carbon dioxide by spirulina sp. and scenedesmus obliquus cultivated in a three-stage

serial tubular photobioreactor. *Journal of Biotechnology*, Elsevier BV, v. 129, n. 3, p. 439–445, may 2007.

NELSON, D. L. *Princípios de Bioquímica de Lehninger (Em Portuguese do Brasil)*. [S.l.]: Artmed, 2014. ISBN 8582710720.

NEVES, F. de F. *Fixação de carbono através de microalgas nativas (Chlamydomonas sp.) cultivadas em diferentes concentrações de CO₂*. Tese (Doutorado) — UFSC, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Florianópolis, 2013.

PEREZ-GARCIA, O.; BASHAN, Y. Microalgal heterotrophic and mixotrophic culturing for bio-refining: From metabolic routes to techno-economics. In: *Algal Biorefineries*. Springer Science + Business Media, 2015. p. 61–131. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-20200-6_3>.

RAVEN, P. H. *Biologia Vegetal (Em Portuguese do Brasil)*. [S.l.]: Guanabara Koogan, 2014. ISBN 852772362X.

SCHMIDELL, W. *Biotecnologia Industrial - Volume 2 (Em Portuguese do Brasil)*. [S.l.]: Edgard Blucher, 2001. ISBN 8521202792.

TALBOT, P.; GORTARES, M. P.; LENCKI, R. W.; NOÛE, J. de la. Absorption of CO₂ in algal mass culture systems: A different characterization approach. *Biotechnol. Bioeng.*, Wiley-Blackwell, v. 37, n. 9, p. 834–842, abr. 1991.

TALBOT, P.; LENCKI, R. W.; NOÛE, J. de la. Carbon dioxide absorption characterization of a bioreactor for biomass production of phormidium bohneri: comparative study of three types of diffuser. *Journal of Applied Phycology*, v. 2, p. 341–350, dez. 1990.

TEBBANI, S.; LOPES, F.; FILALI, R.; DUMUR, D.; PAREAU, D. CO₂ biofixation. In: *CO₂ Biofixation by Microalgae*. [S.l.]: Wiley-Blackwell, 2014. p. 23–32.

TIMMONS, M. B.; EBELING, J. M. *Recirculating Aquaculture, 3rd Edition*. [S.l.]: Ithaca Publishing Company, LLC, 2013. ISBN 0971264651.

- TREVAN, M. Micro-algal biotechnology edited by m. a. borowitzka and l. j. borowitzka, cambridge university press, cambridge, 1988. pp. 477, price £45.00. ISBN 0-521-323495. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, Wiley-Blackwell, v. 47, n. 2, p. 181–182, apr 2007.
- UGWU, C.; AOYAGI, H.; UCHIYAMA, H. Photobioreactors for mass cultivation of algae. *Bioresource Technology*, Elsevier BV, v. 99, n. 10, p. 4021–4028, jul 2008.
- WANG, J.; YANG, H.; WANG, F. Mixotrophic cultivation of microalgae for biodiesel production: Status and prospects. *Appl Biochem Biotechnol*, Springer Science + Business Media, v. 172, n. 7, p. 3307–3329, feb 2014.
- WETZEL, R. G.; LIKENS, G. *Limnological Analyses*. [S.l.]: Springer, 2000. ISBN 0387989285.
- YING, K.; AL-MASHHADANI, M. K. H.; HANOTU, J. O.; GILMOUR, D. J.; ZIMMERMAN, W. B. Enhanced mass transfer in microbubble driven airlift bioreactor for microalgal culture. *Engineering*, Scientific Research Publishing, Inc., v. 05, n. 09, p. 735–743, 2013.